Institut Universitaire de Formation des Maîtres

de l'Académie de Montpellier (site : Montpellier)

MEMOIRE PROFESSIONNEL

L'AUTONOMIE

Comment rendre les élèves de terminale STL plus autonomes en séance de travaux pratiques ?

Année 2003-2004

Ecrit par **Anne DOUAY et Sandrine MORSA**

PLC2 filière biochimie-génie biologique
Lycée du Dr Lacroix (Narbonne)

Assesseur : **Marie-Laure REYNE**
Directeur de mémoire : **Stéphane ALBANO**

Soutenance le 22 avril 2004

RESUME

Les élèves de section STL se destinent pour la plupart à des profession de techniciens, ils doivent acquérir tout au long de leur formation le savoir faire requis pour leur future profession.
C'est pourquoi, les travaux pratiques occupent une place importante dans cette section et sont sanctionnés d'un très fort coefficient au baccalauréat.

Durant leurs études, nos élèves sont censés acquérir une autonomie suffisante pour la réalisation et la compréhension de nombreuses manipulations qu'ils seront certainement destinés à reéxécuter plus tard dans leur vie professionnelle.

Suite à l'observation d'une classe de terminale STL, nous avons pu constater que les élèves sont loin d'avoir acquis cette autonomie.

C'est pourquoi dans ce mémoire nous avons essayé de résoudre ce problème, au travers de diverses méthodes pédagogiques, afin de rendre ces élèves plus autonomes en séance de travaux pratiques.

La mayoría de los alumnos de sección STL se destinan a la profesión de técnicos. Para alcansar este objetivo deben de adquirir, a lo largo de su formación, los conocimientos técnicos requeridos para su futura profesión.

Por esta razón, los trabajos prácticos ocupan un lugar importante en esta sección y se sancionan de un muy fuerte coeficiente al bachillerato.

Durante sus estudios, nuestros alumnos deben adquirir una autonomía suficiente para comprender y realizar numerosas manipulaciones que se destinarán ciertamente a repetir más tarde en su vida profesional.

Tras la observación de una clase de terminal STL, pudimos constatar que los alumnos están lejos de haber adquirido esta autonomía.

Esta es la razón por la que en este informe tratamos solucionar este problema, a través de varios métodos pedagógicos, con el fin que estos alumnos sean más autónomos en los trabajos prácticos.

Mots clés :

Autonomie ; Organisation ; Protocole ; Lecture ; Analyse ; Schématisation ; Organigramme

SOMMAIRE

pages

Introduction 6

I- Le manque d'autonomie en travaux pratiques 7

I.1- Les élèves de terminale STL sont peu autonomes en travaux pratiques 7

I.1.1- Problèmes rencontrés au cours des travaux pratiques de microbiologie 7

I.1.2- Problèmes rencontrés au cours des travaux pratiques de biochimie 8

I.2- D'où vient ce manque d'autonomie ? 8

II- Comment rendre les élèves de terminale plus autonomes en séance de travaux pratiques ? 9

II.1- Simplifier les consignes 9

II.2- Aider à comprendre les consignes 10

II.3- Schématiser le protocole 12

III- Expérimentations pédagogiques 14

III.1- En travaux pratiques de microbiologie 14

III.1.1- Lecture du protocole par l'élève 14

III.1.2- Schématisation du protocole 15

III.1.2.1- Schématisation par le professeur 15
III.1.2.2- Schématisation par l'élève 16

III.1.3- Commande du matériel 17

III.1.3.1- Commande sans schématisation préalable 17
III.1.3.2- Commande avec schématisation préalable 18

III.2- En travaux pratiques de biochimie 19

III.2.1- Consignes orales et lecture approfondie du protocole 19

III.2.1.1- Résultats de l'expérimentation 20
III.2.1.2- Analyse 21

III.2.2- Consignes orales, lecture du protocole, schématisation par l'enseignant 21

III.2.2.1- Résultats de l'expérimentation 23
III.2.2.2- Analyse 24

III.2.3- Consignes orales, lecture du protocole, schématisation par l'élève 25

III.2.3.1- Résultats de l'expérimentation 27
III.2.3.2- Analyse

IV- Comparaison des résultats obtenus en travaux pratiques de microbiologie et de biochimie 28

IV.1- Lecture du protocole 28

IV.2- Schématisation par l'enseignant 28

IV.3- Schématisation par les élèves 29

Conclusion 30

Annexes
Annexe 1 : PROTOCOLE : IDENTIFICATION D'UNE SOUCHE BACTERIENNE INCUBEE 24H A 37°C 31
Annexe 2 : ANALYSE D'UNE CREME PATISSIERE 32
Annexe 3 : DENOMBREMENT DES COLIFORMES TOTAUX DANS LA CREME 33
Annexe 4 : Révisions sur le dénombrement 34
Annexe 5 : Hygiène des locaux 35
Annexe 6 : DOSAGE DE LA VITAMINE C 36
Annexe 7 : Détermination de la vitesse initiale d'une réaction enzymatique en fonction de différentes concentrations en substrat afin de déterminer Km et Vm 37
Annexe 8 : Détermination de la glycémie d'un patient : méthode à la glucose oxydase 39

Bibliographie 40

ABBREVIATIONS

2,6-DCPIP : dichloro-2,6-phénolindophénol

PAL : Phosphatase Alcaline

PCA : Plate Count Agar

PNPP: Paranitrophénylphosphate disodique

STL : Sciences et Techniques de Laboratoire

TCBS : Thiosulfate Citrate Bile Saccharose

TP : Travaux Pratiques

Introduction

Un des deux objectifs principaux de la formation STL (Sciences et Techniques de Laboratoire) consiste à **« donner aux élèves une formation technologique leur permettant une insertion professionnelle effective et rapide »**.
Cet objectif, ne peut être réalisé qu'au cours des séances d'activités technologiques pour lesquelles il est redéfini en tant qu'objectif spécifique sous la forme suivante : **« former des techniciens capables de fournir des résultats fiables et reproductibles »**.

Les séances de travaux pratiques doivent donc permettre aux élèves d'acquérir le savoir-faire indispensable à un technicien.
Pour ce faire, les élèves doivent posséder une certaine autonomie (vient du grec AUTO : soi-même et NOMOS : loi), c'est-à-dire qu'ils doivent se révéler capables de réaliser eux-mêmes, et sans l'aide de l'enseignant, une manipulation dans son ensemble.

Enseignant cette année les travaux pratiques en terminale STL, nous avons pu constater que cet objectif est loin d'être atteint tant en microbiologie qu'en biochimie. C'est pourquoi nous avons choisi comme thème de ce mémoire la manière de rendre des élèves de terminale STL plus autonomes en séance de travaux pratiques.

Nous nous intéresserons dans ce mémoire à l'étude en parallèle de deux groupes d'une même classe de terminale pour lesquels des problèmes d'organisation et de compréhension ont été rencontrés en séance de travaux pratiques.

La première partie de ce mémoire sera consacrée à l'analyse des constats nous ayant amené à une problématique commune, et ce pour deux types d'activités différentes que sont les travaux pratiques de microbiologie et de biochimie.

La deuxième partie quant à elle portera sur les différentes hypothèses permettant de résoudre le problème du manque d'autonomie des élèves en séance de travaux pratiques.

La troisième partie traitera de la mise en place d'expériences pédagogiques, ayant pour but de rendre les élèves plus autonomes en travaux pratiques, ainsi que de l'interprétation des résultats obtenus.

Enfin, dans la dernière partie nous comparerons les résultats obtenus en travaux pratiques de microbiologie et de biochimie pour les différentes stratégies employées.

I- Le manque d'autonomie en travaux pratiques

I.1- Les élèves de terminale STL sont peu autonomes en travaux pratiques

Qu'il s'agisse de microbiologie ou de biochimie, les séances de travaux pratiques en terminale STL se déroulent de façon similaire.

Elles débutent tout d'abord par la correction du TP précédent afin de rectifier certaines erreurs ou incompréhensions des élèves.

S'en suit la présentation de la séance, partie assez théorique permettant de présenter le but de la ou des manipulation(s) réalisée(s) par la suite ainsi que le(s) principe(s) de celle(s)-ci. Au cours de cette partie « théorique », les élèves peuvent s'ils le souhaitent demander des précisions sur des points qui leur semblent peu clairs.

Viennent ensuite la distribution du protocole et l'organisation de la séance ; étapes pendant lesquelles les points délicats du protocole sont abordés. Les réactifs utilisés ainsi que leur place dans la salle sont ensuite présentés et les consignes de sécurités énoncées.

Après toutes ces étapes, le TP proprement dit peut réellement commencer.

La séance se termine par la rédaction d'un compte-rendu, lequel permet d'évaluer la compréhension des élèves, et de constituer une trace écrite pour les élèves.

I.1.1- Problèmes rencontrés au cours des travaux pratiques de microbiologie

Une fois la présentation théorique terminée, le protocole est distribué aux élèves. La lecture est faite par le professeur, et le matériel nécessaire est présenté en parallèle. Les élèves commencent ensuite la manipulation avec le protocole en tant que support.

Les gestes techniques sont relativement bien respectés pour la plupart des élèves ainsi que les conditions de sécurité .

Cependant les élèves font souvent appel au professeur pour :

- Avoir des précisions sur le matériel utilisé
- Dans quel but s'en servir
- Connaître la nature des milieux de culture utilisés
- Savoir avec quelle suspension ensemencer tel milieu
- Apporter les solutions aux problèmes posés dans le protocole

Les erreurs de manipulations fréquemment rencontrées sont:

- Ensemencement de milieux de culture inadaptés
- Volumes ensemencés erronés

De plus, le temps de réalisation pratique est souvent trop long, et certains élèves quittent leurs postes de travail pour chercher le matériel qui leur manque.

I.1.2- Problèmes rencontrés au cours des travaux pratiques de biochimie

La présentation de la séance se déroule généralement sans incident, les élèves semblent attentifs et tous semblent avoir compris le(s) but(s) et principe(s) de la (des) manipulation(s). Il en est de même lors de la lecture du protocole par l'enseignant.

Ce n'est qu'au cours de la partie pratique que les problèmes apparaissent.
J'ai pu constater à plusieurs repris es, et dans différents types de manipulations, que certains élèves se révélaient très peu autonomes. Bien que les gestes techniques de base soient acquis, l'organisation quant à elle ne l'est pas, et en voici quelques exemples :

- Lors d'étalonnages de solutions il est arrivé qu'un d'entre eux inverse la solution à étalonner avec la solution étalon (inversion burette/Erlenmeyer) ;

- Lors d'une séance portant sur la détermination des indices d'acide et d'iode d'un corps gras, deux d'entre eux allaient commenc er par l'indice d'acide au lieu de commencer par l'indice d'iode et de réaliser l'indice d'acide pendant les trente minutes d'attente nécessaires à la réalisation de l'indice d'iode (car la partie indice d'acide se trouvait rédigée en premier sur le protocole) ;

Plus généralement

- Il est fréquent que le matériel dont ils ont besoin ne soit pas prêt sur leur paillasse au moment où ils en ont besoin ce qui les oblige à quitter leur poste de travail ;

- Certains d'entre eux demandent des précisions sur l'organisation pendant les manipulations ;

- Il arrive également lors de la rédaction du compte-rendu que plusieurs d'entre eux ne savent plus ce qu'ils viennent de faire et oublient certaines des étapes effectuées (le plus souvent il s'agit des dilutions).

Comme on peut le constater, les problèmes d'autonomie rencontrés en microbiologie et en biochimie sont pour ainsi dire similaires, c'est pourquoi ils peuvent être qualifiés de problèmes rencontrés en travaux pratiques et semblent avoir la même origine.

I.2- D'où vient ce manque d'autonomie ?

Le manque d'autonomie rencontré lors des séances de travaux pratiques (de microbiologie ou de biochimie) peuvent avoir plusieurs causes :

- une mauvaise compréhension lors de la partie précédant les manipulations ;
- un manque de motivation de la part des élèves ;
- un manque d'initiative des élèves du à un manque de confiance en soi ;
- une lecture superficielle du protocole.

Parmi les différentes causes pouvant influencer le comportement des élèves en séance de travaux pratiques, nous axerons nos recherches sur la mauvaise appropriation du protocole qui semblerait être, d'après ce que nous avons pu observer durant les séances de travaux pratiques, l'origine principale du manque d'autonomie de cette classe de terminale STL.

Cette « non-appropriation du protocole » serait dû en grande partie à une mauvaise lecture du protocole et de ce fait une mauvaise analyse de ce dernier.

Les élèves se pressent pour manipuler, ils effectuent les manipulations dans l'ordre énoncé sans même essayer de comprendre ce qu'ils font.
Ceci rejoint ce que dit J.M. ZAKHARTCHOUK (1999) à propos d'élèves de collège :
« L'énoncé à peine lu, il prend crayon et papier, il écrit. Il n'a parfois même pas lu la question posée. Il paraît attentif, il a l'attitude de l'esprit attentif, mais n'a pas cette attention mentale qui lui permet de progresser ».

Or ***« si on ne comprend pas ce qui est demandé, on a très peu de chances « d'avoir bon » »*** et c'est ce qui se produit en séances de travaux pratiques, l'élève qui n'a pas compris ce qu'il est en train de faire risque de se tromper :

- soit au moment de la manipulation, comme c'est le cas lorsqu'il y a inversion des réactifs en biochimie ;

- soit au moment de la rédaction du compte-rendu, en répondant mal aux questions posées.

Le manque d'autonomie de la part de ces élèves de terminale peut avoir des conséquences graves en ce qui concerne la poursuite de leurs études ou leur avenir dans la vie professionnelle.
En effet, une erreur de manipulation le jour du baccalauréat peut leur causer un échec à l'examen, et plus tard ce manque d'autonomie peut compromettre leur place de technicien.

Il faut donc impérativement palier à ce problème de manque d'autonomie.

II- Comment rendre les élèves de terminale plus autonomes en séance de travaux pratiques ?

II.1- Simplifier les consignes

? La simplification des consignes peut passer par **la simplification du vocabulaire** et la rectification des tournures de phrases.

Cependant, il paraît peu probable pour des élèves de terminale que le problème de compréhension des consignes soit lié à un simple problème d'incompréhension du français.
En effet, d'une part le vocabulaire employé sur un protocole est relativement simple, d'autre part les tournures de phrases sont simples et brèves n'amenant aucune équivoque, enfin, ces élèves ont l'habitude depuis la classe de première d'avoir affaire à ce genre de document.

? On pourrait penser alors à simplifier le protocole en **plaçant simplement les manipulations dans l'ordre** dans lequel elles doivent être effectuées ce qui permettrait aux élèves d'avoir une meilleure organisation dans leur travail.

Mais, comme le fait remarquer J.M. ZAHARTCHOUK (1999) ***« il faut se méfier de tomber dans la dérive du trop facile (en simplifiant de trop). C'est le cas chaque fois qu'on guide***

tellement l'élève qu'on supprime toute difficulté. La réussite (après ça) s'est faite au détriment de l'apprentissage, la procédure utilisée est même nuisible en ce qu'elle renforce l'obstacle constitué par la non prise en compte de l'élève. ».

En simplifiant le protocole à outrance, on force en quelque sorte l'élève à l'exécuter sans réfléchir comme il le ferait dans le cas d'une recette de cuisine. Le remède serait certainement pire que le mal en ce sens où l'élève une fois devant sa copie de baccalauréat se trouverait dans l'incapacité de s'organiser correctement n'ayant pas l'habitude d'analyser ce qui lui est demandé de faire (mais au contraire de l'exécuter bêtement).

Dans notre cas, la solution au problème d'autonomie consisterait plutôt à guider les élèves dans la compréhension des consignes.

D'après J.M. ZAKHARTCHOUK (1999) : ***« aider l'élève à comprendre les consignes, ce sera tout autant l'outiller que de lui permettre d'effectuer son propre cheminement, de confronter celui-ci à d'autres possibles, l'accompagner dans un parcours où se tromper ne sera pas une faute mais souvent un passage obligé, lui donner plus de conscience de ce qu'il fait lorsqu'il apprend pour pouvoir ensuite, hors situation, en dehors des exemples types et des exercices d'application ou de remédiation, en dehors du court terme, réutiliser ce qu'il a appris. »***.

II.2- Aider à comprendre les consignes

Pour guider les élèves dans l'acquisition de l'autonomie en travaux pratiques nous pensons que la meilleure des solutions est de leur apprendre à lire les consignes (consignes qui se limitent ici au protocole).

? Il faut donc leur enseigner à **« décortiquer la consigne »** c'est-à-dire comme le dit J.M. ZAKHARTCHOUK (1990) leur faire toucher du doigt ***« en quelles opérations intellectuelles simples se décompose cette tâche complexe »***.

Les protocoles de travaux pratiques comprennent généralement deux parties bien distinctes :

- la partie informative ou explicative qui correspond aux données et rappels ;
- la partie injonctive qui correspond au « mode d'emploi ».

En s'appuyant sur la classification de J.M. ZAKHARTCHOUK la typologie des protocoles est la suivante :

Objectif	Type de texte	Exemple
Expliquer, faire comprendre	Explicatif	Partie présentant brièvement le principe du TP
Faire agir	Injonctif	Consignes

La distinction, dans un premier temps, entre ces deux parties est essentielle pour l'acquisition de l'autonomie.

Une fois repérée, la partie injonctive doit être ensuite méthodiquement « décortiquée ».

En effet elle énonce les différentes étapes de la manipulation qui doivent être bien distinguées les unes des autres.

- L'élève doit apprendre à repérer et différencier ces différentes étapes, à les décomposer pour pouvoir exécuter au mieux ce qui lui est demandé.

- L'élève doit apprendre à repérer et savoir mettre en évidence les points délicats de la manipulation tels que les temps d'attente, les réactifs dangereux, le type de boite à ensemencer, la température d'incubation…

Cependant, il est nécessaire, en travaux pratiques, que le professeur ne laisse pas un élève découvrir seul une manipulation qu'il n'a jamais réalisée.

C'est pourquoi, avant même que l'élève n'ait lu son protocole en détails, l'enseignant insiste sous forme de consignes orales sur les points primordiaux du protocole.
Ainsi il met l'accent sur les étapes délicates d'une manipulation qui pourraient passer inaperçues aux yeux d'un élève.

? Un des points permettant de guider les élèves est donc le **choix judicieux des consignes orales**.

En effet d'après J.M. ZAKHARTCHOUK (1999) ***« comprendre les consignes englobe les consignes orales et indique clairement qu'on ne peut limiter la question à la lecture »*** .
Cependant ***« il est préférable de ne pas surcharger l'esprit de l'élève de trop de consignes »,*** en effet***, « si certains élèves perçoivent assez facilement la consigne orale et l'enregistrent instantanément, d'autres ont besoin de reformulation interne plus lente, voire d'une écriture de la consigne »***.

L'enseignant laisse donc le temps, aux élèves qui le souhaitent, de noter en marge de leur protocole les données apportées.

Il est clair que lecture mot à mot du protocole avec les élèves ne sert à rien, tout comme l'apport d'un excès d'information.
Le professeur se contente donc, dans cette première approche, de donner des pistes de travail à l'élève, il ne reprend que les points forts de la manipulation, ceux qui méritent une attention particulière.
Par exemple :

- il fait remarquer qu'une des étapes nécessite un temps d'attente sans pour autant préciser qu'il vaut mieux que celle-ci soit réalisée en premier ;
- il peut aussi faire remarquer que différents milieux sont à ensemencer selon le type de bactérie sans préciser quels milieux il faut ensemencer pour telle ou telle bactérie….

Ces consignes orales présentent deux avantages : elles indiquent à l'élève quels sont les points de la manipulation qui pourraient lui poser problème et ce sans lui mâcher le travail, et elles l'incitent à une lecture approfondie du protocole afin d'aller chercher les informations complémentaires.

De plus, nous avons pu constater que certains d'entre eux ***« refusent notre aide généreuse parce qu'ils ont l'impression que l'adulte veut tout maîtriser y compris leur***

façon personnelle de travailler, leurs habitudes» c'est pourquoi le fait de ne donner que de simples pistes permet à l'élève de se sentir plus libre quant à « sa façon » de travailler.

L'aide des élèves dans l'acquisition de l'autonomie passe donc par :

- Un apprentissage méthodique de la lecture du protocole : distinction entre la partie informative et la partie injonctive, et repérage des différentes phases de manipulation pour l'appropriation du protocole ;

- Un « guidage » oral de la part de l'enseignant sans pour autant submerger l'élève par une multitude de consignes orales qui pourraient au lieu de l'aider soit lui mâcher le travail et l'inciter à ne pas lire en détail son protocole, soit le noyer dans trop d'information et être ainsi source d'incompréhensions.

Suite à ces deux étapes l'élève a réellement pris connaissance de ce qu'il doit faire, mais il ne s'est pas réellement approprié le protocole.

L'appropriation d'un document (cours, exercice, protocole…) par un élève doit passer obligatoirement par une étape de « traduction en langage élève » par l'élève lui-même.

L'analyse d'un protocole contrairement à un cours doit être relativement rapide en ce sens où elle doit être effectuée pendant la séance et permettre d'avoir le temps de réaliser la manipulation.
C'est pourquoi nous pensons que la retranscription de la manipulation sous forme de schéma est la manière la plus adéquate pour que l'élève s'approprie le protocole et puisse par la suite réaliser la manipulation avec une grande autonomie.

II.3- Schématiser le protocole

D'après J.F. VEZIN (1986) : ***« Un schéma est le résultat de séparation, de réorganisation, de tris entre des éléments »***.

Tout schéma est en fait une représentation simplifiée du réel, mais attention, il ne faut pas se méprendre sur la signification du terme simplification qui ne correspond en aucun cas à un appauvrissement.
La simplification conférée par le schéma doit plutôt être considérée comme un ***« enrichissement apporté par une augmentation du degré de généralisation et de conceptualisation sous l'effet d'un processus d'abstraction »***.

Le schéma semble donc être l'outil à privilégier en travaux pratiques. En effet, selon une classification réalisée par A. MOLES voici les raisons pour lesquelles nous pensons que le schéma est l'outil adéquat pour des travaux pratiques :

SCHEMA	
Spécificité	Représentation simple et fonctionnelle : résultat d'un processus d'abstraction
Fonction(s)	- Décrire - Expliquer - Modéliser
Processus d'élaboration	- Analyser - Synthétiser - Exécuter (déformation)
Pôles de difficultés pédagogiques	Exercice difficile car il faut : analyser, éliminer, synthétiser c'est-à-dire abstraire
Qualités à développer	Apprendre à : - séparer l'accessoire de l'essentiel ; - réunir par classe d'équivalence ; - adapter la représentation à la fonction.
Dominance d'apport d'information	- Aider à cerner la fonction - Travailler la notion de classe d'équivalence - Apporter des codes
Quoi ?	- Le réel « existant » - Le réel « médiatisé » - Le réel « à construire » - Transcoder (le texte)

De plus, comme le dit J.F. VEZIN (1986) : ***« Le schéma dans sa dimension synoptique permet la mise en relation des éléments. Il a donc une fonction d'économie cognitive car il permet de voir en une même appréhension d'avantages de données »***.
Le schéma, par son côté « visuel » facilite donc le traitement des données.
« Il rend visible des choses invisibles et de ce fait les rend plus compréhensibles c'est-à-dire plus manipulables par la pensée à travers les représentations mentales qu'il évoque ».

Bien que le schéma semble l'outil de communication idéal pour l'analyse d'un protocole, il vaut mieux éviter de le donner tel quel aux élèves. Dans un tel cas, les élèves se révèleraient effectivement très autonomes en ce qui concerne la manipulation mais comme nous l'avons déjà dit plus haut ***« la réussite se serait faite au détriment de l'apprentissage »***.

Il vaut mieux utiliser une méthode pédagogique constructiviste telle que la méthode appropriative préconisée par E.CHARMEUX (1985). Cette méthode est basée sur ***« la construction du savoir par les élèves eux-mêmes ; et fait appel à la résolution de problèmes pour amener les élèves à construire leurs propres réponses »***. Cette méthode vise ***« une construction de savoir conceptuel »***.

Il est donc préférable de laisser les élèves réaliser leur propre schéma (ou plan de manipulation).

Bien entendu, les premiers temps leurs schémas apparaîtront incomplets voire même erronés, mais comme le dit J.M. ZAKHARTCHOUK (1999) : ***« Bien souvent c'est l'erreur provisoire devant la consigne mal comprise*** (ici le protocole) ***qui va être formatrice pour l'élève, alors que la simplification outrancière*** (par l'enseignant) ***l'enferme dans une routine mécanique***

qui le laisse impuissant devant les vrais obstacles ». Il suffit de guider l'élève dans la réalisation de son propre schéma (à l'aide des points énoncés précédemment).

Ainsi, la retranscription d'un protocole (ou d'une manipulation) sous forme de schéma (plan de manipulation) permet tout d'abord aux élèves d'analyser celui-ci, de n'en faire ressortir que l'essentiel (laissant de côté l'accessoire qui peut avoir un effet perturbateur) et donc de le comprendre et de se l'approprier.
Mais cette schématisation permet surtout aux élèves d'avoir une vision globale de l'ensemble des données (ce que ne permettent ni un texte écrit, ni un discours oral) et il en résulte une « entière autonomie ».

L'acquisition de l'autonomie par les élèves de terminale nécessite donc une aide apportée par l'enseignant. Cette aide consiste en des consignes orales, l'apprentissage de la lecture des consignes, et l'apprentissage de la schématisation.

Nous allons étudier plus concrètement, chacune avec notre groupe d'élève, les points que nous venons de citer, et ce à l'aide de plusieurs expérimentations pédagogiques, en vue de comparer l'efficacité de chacune de ces stratégies dans nos deux matières.

III- Expérimentations pédagogiques

III.1- En travaux pratiques de microbiologie

J'ai expérimenté un paramètre à la fois afin d'analyser l'efficacité de chacun d'entre eux, et d'apporter une solution testée la séance d'après.
Les expérimentations réalisées sont les suivantes :

- **Lecture du protocole** par les élèves ;
- **Schématisation par l'enseignant** du mode opératoire ;
- **Schématisation par l'élève** du mode opératoire.

Les observations portent sur :

- L'**organisation** et le **comportement** des élèves pendant le TP ;
- Les **erreurs** commises pendant le TP ;
- La qualité du **compte rendu**.

III.1.1- Lecture du protocole par l'élève :

? ? **Organisation de la séance :**

L'objectif du TP est de réviser les bacilles Gram- Oxydase + (*Annexe 1*).

Les élèves disposent d'une fiche explicative de l'ensemencement de la galerie API 20NE qui leur a été fournie en début de séance et des fiches sur les milieux qu'ils ont étudiés en classe de première.

Les élèves disposent de cinq minutes pour lire le protocole présenté en *annexe 1* avant d'obtenir les consignes orales leur indiquant les milieux et la galerie à ensemencer.

? ? **Problèmes rencontrés:**

- Pendant le TP, deux élèves n'ont pas su différencier le milieu cétrimide du milieu TCBS (élève A et C) ;
- Sur le compte-rendu : deux élèves (E et F) n'ont pas indiqué les températures d'incubation ;
  quatre élèves (C, F, G, B) n'ont pas indiqué les propriétés des milieux.

Les consignes n'ont donc pas été respectées pour certains, or lire les consignes est un savoir-faire indispensable à la réussite des TP.

? ? **Hypothèses :**

Peu d'élèves lisent convenablement le protocole, c'est à dire de façon approfondie en réfléchissant au matériel dont ils ont besoin, et en essayant de comprendre le but de chaque étape.

L'élève ne s'approprie pas le document qui lui est fourni, il n'a pas qu'une vue générale de ce qu'il doit faire et ne se réfère plus au protocole lorsqu'il manipule.

? ? **Solutions envisagées :**

Afin d'obtenir une analyse du protocole de la part des élèves, j'ai pensé avoir recours à la schématisation du protocole.

III.1.2- Schématisation du protocole

« Le schéma permet de transcoder un texte en figure ou dessin , stimulant la mémoire visuelle de l'élève par des représentations simples et fonctionnelles ».

L'intérêt du schéma se situe à plusieurs niveaux :

- Imager des mots ;
- Suivre avec facilité les étapes de la manipulation ;
- Avoir une réflexion sur le matériel nécessaire à chaque étape et sur la chronologie des manipulations ;
- La stimulation visuelle ***« favorise une meilleure intégration des informations communiquées ».***

III.1.2.1- Schématisation par le professeur

Séance : Dénombrement en milieu liquide (*Annexe 2*).

? ? **Organisation de la séance:**

En début de séance, avant de commencer le TP, les étapes du protocole sont schématisées au tableau. L'objectif étant d'expliquer progressivement le but de chaque étape. Les élèves ont recopié ces schémas afin d'avoir une trace écrite dans leur cours, et les schémas sont laissés au tableau pour qu'ils puissent s'y référer pendant la manipulation.

? ? **Problèmes rencontrés :**

Pendant le TP :

- Des questions sont posées alors que les réponses sont au tableau et sur le protocole : « Quelles sont les dilutions à ensemencer » (élève B, E, A) ;
- L'homogénéisation des tubes n'a pas toujours été réalisée (E,K ,F) ; point important sur lequel j'avais insisté lors de la présentation de la technique et la schématisation au tableau.

Sur le compte rendu : cinq élèves n'ont pas tenu compte du facteur de dilution de la crème glacée indiqué dans l'énoncé (A, D, I, J, K).

? ? **Hypothèse :**

Les élèves sont en situation de « récepteur » de schémas, aucune appropriation de leur part.

? ? **Solution envisagée :**

Les élèves élaboreront eux-même la schématisation du protocole avant la réalisation pratique.

III.1.2.2- Schématisation par l'élève

? ? **Organisation** :

Après distribution du protocole présenté en *annexe 3*, la lecture et l'organigramme de la manipulation sont faits par les élèves avant de commencer la pratique. Les élèves doivent prendre le matériel dont ils ont besoin.

? ? **Intérêt :**

C'est l'élève qui construit le schéma, il est en situation d'émetteur : il réfléchit, lit le protocole, l'analyse, le synthétise, et ressort les points essentiels.

« Le travail de l'élève fait partie intégrante de la situation d'enseignement. »

? ? **Problèmes rencontrés pendant la séance:**

Le temps pris pour élaborer les schémas est trop long, pour la totalité de la classe.

Quatre élèves se lèvent pendant le TP pour aller chercher le matériel manquant (A,B,E,J).

Cependant, le nombre de questions posées a diminué et la réalisation pratique fut relativement bien menée.

? ? **Hypothèses :**

- Les élèves privilégient la qualité, l'esthétique du schéma par crainte de la note du compte-rendu ;
- Les élèves éprouvent des difficultés à synthétiser, à transcoder un texte en un schéma .

? ? **Résultats du compte rendu :**

Nombre de schémas incomplets	***6 élèves (A,B,D,E I,J)***
Erreur de calculs	*2 élèves (F, E)*
Pas de conclusion sur la qualité de la crème	*3élèves (J, B, C)*

? ? **Analyse critique:**

- La plupart des schémas étaient explicites sur l'ordre chronologique et la réalisation globale des manipulations, mais le matériel nécessaire n'était pas indiqué (nombre de pipettes, volumes prélevés).

- Parmi les six élèves ayant élaboré des schémas incomplets, quatre se sont levés pour prendre le matériel manquant. Ceci montre que la réalisation d'un organigramme complet évite des déplacements inutiles dans la salle ; ce qui constitue un gain de temps pour le manipulateur.

- Trois élèves n'ont pas conclu quant à la qualité de la crème analysée. Là encore ces élèves n'ont pas suivi les consignes indiquées sur le protocole.

? ? **Solution envisagée :**

Afin d'éviter les déplacements inutiles, les élèves devront commander le matériel dont ils auront besoin pour la totalité de la réalisation pratique.

III.1.3- Commande du matériel

Les élèves doivent commander le matériel dont ils ont besoin pour la totalité des manipulations à réaliser au cours de la séance.

? ? **Intérêt :**

La commande du matériel oblige l'élève à réfléchir sur la manipulation, la réalisation des techniques. L'élève commence la manipulation avec tout le matériel sur son poste de travail, ce qui évite les déplacements multiples dans la classe et aboutit à un gain de temps.

III.1.3.1- Commande sans schématisation préalable :

? ? **Organisation :**

Au cours de la séance révision sur le dénombrement (*Annexe 4*), le protocole est distribué aux élèves, la lecture est faite par l'enseignant à l'ensemble de la classe afin d'indiquer la localisation du matériel.

Chaque élève doit effectuer une commande écrite pour disposer du matériel nécessaire. La réalisation d'un organigramme n'est pas obligatoire.

? ? **Résultats obtenus:**

Commande incomplète	7 élèves : B C D F G K I
Déplacement dans la salle	7 élèves : B C D F G K I
Erreurs de manipulation	Volume ensemencé de 1mL sur Baird Parker (élève A) Gélose PCA coulée avant l'ensemencement (élève B, J)
Problème d'organisation	Changement de pipette pour l'ensemencement des dilutions (élèves G)

? ? **Analyse critique :**

- Un manque de rigueur dans l'analyse du protocole aboutit à une commande incomplète dans la plupart des cas et de ce fait, à des déplacements inutiles dans la classe.

- Les erreurs de manipulations et les problèmes d'organisation témoignent d'un manque d'appropriation du protocole d'autant plus que les élèves ayant commis ces erreurs sont ceux dont la commande était incomplète.

? ? **Solution envisagée :**

Afin de visualiser la manipulation, les élèves devront réaliser un organigramme avant de commander le matériel nécessaire.

III.1.3.2- Commande avec schématisation préalable

A partir du protocole (*annexe 5*), les élèves doivent schématiser chaque étape et pour chacune indiquer le matériel requis.

Ils doivent ensuite faire une liste finale du matériel nécessaire avant de pouvoir commencer la manipulation.

? ? **Résultats :**

Commande incomplète	3 élèves : D, G, I
Erreur de manipulation	Aucun
Erreur de calcul	3 élèves : B, K, F

L'ensemble de la manipulation s'est relativement bien déroulée

? ? **Analyse critique :**

Le nombre de commandes complètes est plus important lorsque les élèves élaborent eux-même l'organigramme.

La réalisation de l'organigramme permet à l'élève d'une part d'intégrer toutes les données et les consignes à respecter, et d'autre part de synthétiser et prendre conscience de l'ensemble du matériel nécessaire.

III.2- En travaux pratiques de biochimie

J'ai choisi de tester plusieurs stratégies durant les travaux de biochimie :

- **consignes orales** suivies d'une **lecture « approfondie » du protocole** par les élèves ;

- **consignes orales, lecture du protocole** par les élèves suivie de la **schématisation** de la manipulation au tableau **par l'enseignant** (schéma construit avec la participation des élèves) ;

- **consignes orales**, **lecture du protocole** par les élèves et **schématisation** de la manipulation **par** tous les élèves : **chaque élève** établit son plan de manipulation et ne peut commencer à manipuler tant que le professeur n'a pas vérifié ce dernier.

Ces trois séries d'expériences ont été testées à différentes périodes de l'année, sur des manipulations différentes, avec un groupe de onze élèves .

Lors de chaque expérience j'ai suivi le comportement des élèves afin d'évaluer leur autonomie.

Ont été observés :

- le comportement pendant la manipulation : nombre et type de questions posées, rapidité de manipulation, erreurs et oublis éventuels;

- le comportement après la manipulation au moment du compte-rendu : nombre et type de questions posées, rapidité de rédaction, erreurs éventuelles dans le compte-rendu.

III.2.1- Consignes orales et lecture approfondie du protocole

Cette stratégie a été mise en œuvre dans plusieurs travaux pratiques. J'ai choisi de vous présenter **le dosage de la vitamine C** (*protocole en annexe 6*).

Ce TP était divisé en deux grandes parties : tout d'abord l'étalonnage de la solution de 2,6-DCPIP par une solution étalon de vitamine C; puis le dosage de la vitamine C dans une orange à l'aide de la solution précédemment étalonnée.

Ce TP est le dixième de l'année, il s'agit d'une manipulation ne présentant pas de problème majeur, le seul point délicat abordé avec les élèves en tant que **consigne orale** concernait les précautions à prendre au niveau du dosage (verser rapidement au départ puis lentement à l'approche du point d'équivalence).

J'ai ensuite **imposé aux élèves un temps de lecture du protocole**. Temps pendant lequel les élèves avaient pour **consigne** de repérer les différentes étapes de la manipulation et de faire ressortir les points essentiels de celle-ci (grâce à des annotations sur leur protocole). Tant que le protocole n'a pas été analysé, les élèves n'ont pas été autorisés à commencer à manipuler :

III.2.1.1- Résultats de l'expérimentation

? Comportement pendant la manipulation

Tous les élèves ont commencé par la partie étalonnage qui ne leur a posé aucun problème : les élèves manipulent rapidement et correctement et ne posent pas de questions.

La seconde partie du TP est beaucoup moins réussie :

Observations		**Nombre d'élèves**
Erreurs	Orange non pesée	**3** (A, B, C)
	Volume total de jus contenu dans l'orange non mesuré	**1** (D)
Problème d'organisation	Eau distillée à bouillir au dernier moment	**2** (C, D)
Questions	Faut-il doser ce qui a été filtré ou la solution de vitamine C ?	**1** (E)
	Pourquoi peser l'orange et mesurer le volume total de jus ?	**2** (B, C)

? Comportement après la manipulation

Observations		**Nombre d'élèves**
Rédaction du compte-rendu	Extrêmement longue (un peu plus d'une heure)	**Tous**
Qualité du compte-rendu	Erreur dans le calcul de la teneur en vitamine C en mg par litre de jus et en mg pour 100 g de fruit	**3** ont fait une erreur **3** n'y ont pas répondu

III.2.1.2- Analyse

- Malgré la simplicité de la manipulation, deux étapes essentielles ont été oubliées par quatre élèves.
Ceci les a pénalisé dans la rédaction du compte-rendu, en effet sans la masse ou le volume total, il est impossible de pouvoir répondre à la dernière question.

- Deux élèves ont été confrontés à un problème d'organisation dans le temps qui leur a causé un retard par rapport à l'ensemble du groupe et de ce fait moins de temps pour la rédaction du compte-rendu.

- Un d'entre eux a posé une question pour le moins «troublante », à savoir quelle solution devait être dosée.
Cette question est la preuve irréfutable que l'élève n'a strictement rien compris à ce qu'il était en train de faire.

Le protocole a été lu attentivement par tous les élèves, mais cependant ces observations prouvent que nombre d'entre eux ne se le sont pas approprié.

Les élèves ont effectivement lu le protocole mais ils l'ont lu comme ils auraient lu un roman or comme le dit J.M. ZAKHARTCHOUK (1990) ***« on ne lit pas de la même façon un texte narratif et (…) un mode d'emploi »***.

Je pense que ces élèves ont bien suivi la consigne de «décortiquer » les différentes étapes mais sans les faire ressortir clairement ; de ce fait au moment de réaliser la manipulation, ils ont oublié ce qu'ils ont lu.

Leur lecture n'a pas été active c'est-à-dire qu'elle n'a pas été accompagnée d'une réflexion, de ce fait ils n'ont pas pu s'approprier le protocole ce qui a pour conséquence un manque d'autonomie lors de la réalisation de la manipulation.

Pour que tous les élèves s'approprient le protocole, il faut donc qu'ils effectuent une lecture active de celui-ci.
Pour les contraindre à effectuer cette lecture active, l'idée est de leur faire retranscrire au tableau, avec l'aide de l'enseignant, sous forme d'un plan de manipulation.

III.2.2- Consignes orales, lecture du protocole, schématisation par l'enseignant

Cette stratégie a été testée lors du premier TP d'enzymologie (dix-neuvième TP de l'année) : **Détermination de la vitesse initiale d'une réaction enzymatique en fonction de différentes concentrations en substrats afin de déterminer Km et Vm** *(protocole en annexe 7)*.

Ce TP s'est déroulé de manière un peu particulière, le principe a été exposé la semaine précédente afin que la séance ne soit consacrée qu'à l'analyse du protocole et à la manipulation.
Le TP pouvait être divisé en deux grandes parties : tout d'abord la dilution de la solution de PNPP (une dilution par élève) ; puis cinétique enzymatique (une cinétique par élève).

Les TP d'enzymologie nécessitent une organisation particulière et une grande rigueur, essentiellement lors d'un suivi de cinétique (ce qui était le cas ici), en effet, la moindre erreur de quelques secondes seulement fausse les résultats obtenus.
C'est pourquoi j'ai souhaité schématiser avec les élèves la manipulation afin de limiter au maximum les erreurs.

Lors de cette séance j'ai très rapidement repris le principe de la manipulation, puis j'ai immédiatement distribué le protocole aux élèves en leur précisant qu'il fallait réaliser un plan de manipulation au tableau avant de commencer à manipuler.

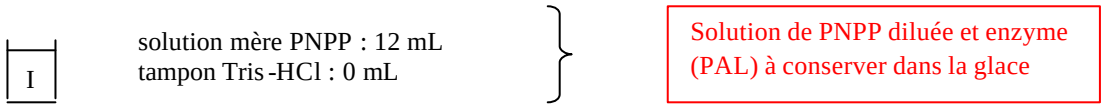
Avant qu'ils ne commencent l'analyse du protocole, une **consigne orale** sur le point critique de la manipulation a été donnée (à savoir que les temps de réaction devaient être respectés à la seconde près).

J'ai ensuite **imposé aux élèves un temps de lecture du protocole**. Temps pendant lequel les élèves devaient essayer de « décortiquer » et de « visualiser » la manipulation.

Suite à cela nous avons **schématisé** ensemble la manipulation au tableau.

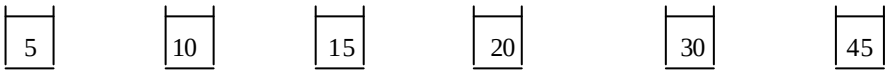
Schéma réalisé au tableau :

1°- Dilution : exemple dilution I



2°- Cinétique :

Tubes



Solution de PNPP diluée : 1 mL

Tampon Tris-HCl : 3 mL

Préincuber 5 minutes à 30°C, préincuber également la PAL 5 minutes à 30°C

Rajouter 1 mL d'enzyme (PAL) à différents temps

t (min) = 5 4 3 2 1 0

Rajouter 1 mL deNaOH à différents temps

t (min) = 10 14 18 22 31 45

Temps de réaction (min) 5 10 15 20 30 45

H_2O : 4 mL

Lecture d'absorbance à 405 nm contre le tube témoin

Tube témoin à réaliser à part (les réactifs sont ajoutés dans un ordre différent)

0	PAL (pré incubée)	1 mL
	NaOH	1 mL
	PNPP diluée	1 mL
	Tris-HCl	3 mL
	H_2O	4 mL
	Lecture d'absorbance à 405 nm	

Une fois le schéma établi, étant donné que les élèves n'ont jamais réalisé de cinétique auparavant, quelques **consignes orales** sont données avant de commencer la manipulation :

- le chronomètre doit être déclenché en même temps que l'enzyme est rajoutée dans le tube 45 (au temps 0) ;
- une fois l'enzyme rajoutée, il faut immédiatement mélanger le tube par retournement ;
- de même lors de l'ajout de NaOH.

Enfin j'ai noté au tableau le nom des élèves en face de la dilution qu'ils avaient à réaliser.

III.2.2.1- Résultats de l'expérimentation

? Comportement pendant la manipulation

Observations		**Nombre d'élèves**
Erreurs	Inversion de dilution	**1** (D) a effectué une autre dilution que celle qui lui était donnée.
	Enzyme hors de la glace	**1** (D)
Organisation dans l'espace	Tubes mal positionnés dans le bain-marie	**4** (B, C, D, F)

Tous les élèves, à l'exception de l'élève D, ont manipulé correctement et de manière autonome.

? Comportement après la manipulation

Observations		Nombre d'élèves
Rédaction du compte-rendu	Extrêmement longue les élèves n'ont pas rendu leur compte-rendu en fin de séance	**Tous**
Questions et incompréhensions	Faut-il tenir compte du fait qu'on ait redilué le PNPP pour calculer sa concentration ?	**La majorité**
	Difficulté à faire le lien entre ce qu'ils ont fait et le compte-rendu	**5**
Qualité du compte-rendu	Courbes mal tracées	**5**

III.2.2.2- Analyse

- Tous les élèves (excepté l'élève D) ont été très autonomes au niveau des manipulations.

- La seule « erreur » que quatre d'entre eux ont commis porte sur le positionnement des tubes au bain-marie (tubes mal alignés ce qui aurait pu entraîner une erreur quant à l'ajout d'enzyme) ; mais cette erreur a été corrigée avant qu'ils ne démarrent la cinétique. En effet, j'ai souhaité contrôler leur poste avant qu'ils ne débutent la cinétique.

- Les élèves ont manipulé rapidement, n'ont pas fait d'erreur bien que les TP d'enzymologie nécessite une grande rigueur d'organisation.

Le fait de schématiser la manipulation avec eux les a incité à lire le protocole beaucoup plus attentivement que ce qu'ils auraient fait. Ils ont effectué une lecture active, en effet ils ont réfléchi à l'organisation particulière de la manipulation.

La schématisation de la manipulation au tableau a pris du temps, en effet, les élèves n'étaient pas encore habitués à l'enzymologie et plusieurs d'entre eux ont proposé une organisation erronée avant d'aboutir à la bonne organisation, mais comme il a été dit plus haut : ***« l'erreur provisoire est formatrice »***.

Cette schématisation leur a permis de visualiser la manipulation dans son ensemble et ainsi de la simplifier. En effet, comme le dit J.F. VEZIN : ***« le schéma permet de fixer, de stabiliser les données d'un problème en les organisant »***.
La « simplification » de la consigne a rendu les élèves plus autonomes.

Le schéma apparaît être une bonne solution pour résoudre le problème d'autonomie en travaux pratiques de biochimie.

Mais la schématisation au tableau par l'ensemble de la classe n'est pas, je pense la meilleure des solutions.
Certains élèves, comme l'élève D n'ont pas ou pratiquement pas participé à l'élaboration du plan de manipulation, en effet la réalisation de ce dernier a été effectuée sous forme de discussion, les élèves prenaient librement la parole pour donner leurs idées et de ce fait certains d'entre eux ont été passifs et n'ont fait que « recevoir » les informations de leurs camarades.
Ceci explique les problèmes rencontrés au niveau de la rédaction du compte-rendu (ainsi que les erreurs de l'élève D).
Les élèves qui n'ont pas aidé à la « simplification » de la manipulation sous forme de schéma ont eu beaucoup de mal à faire le lien manipulation/compte-rendu et ont donc été contraints de poser de nombreuses questions au moment de la rédaction.

Afin que tous les élèves s'approprient le protocole et acquièrent le maximum d'autonomie aussi bien lors des manipulations que lors de la rédaction il faut contraindre chacun d'entre eux à « produire » son propre plan de manipulation avant de débuter le TP.

III.2.3- Consignes orales, lecture du protocole, schématisation par l'élève

Cette stratégie a été testée à plusieurs reprises. J'ai choisi de vous présenter la séance portant sur la détermination de la glycémie par dosage enzymatique : **Détermination de la glycémie d'un patient : méthode à la glucose oxydase** *(protocole en annexe 8)*.

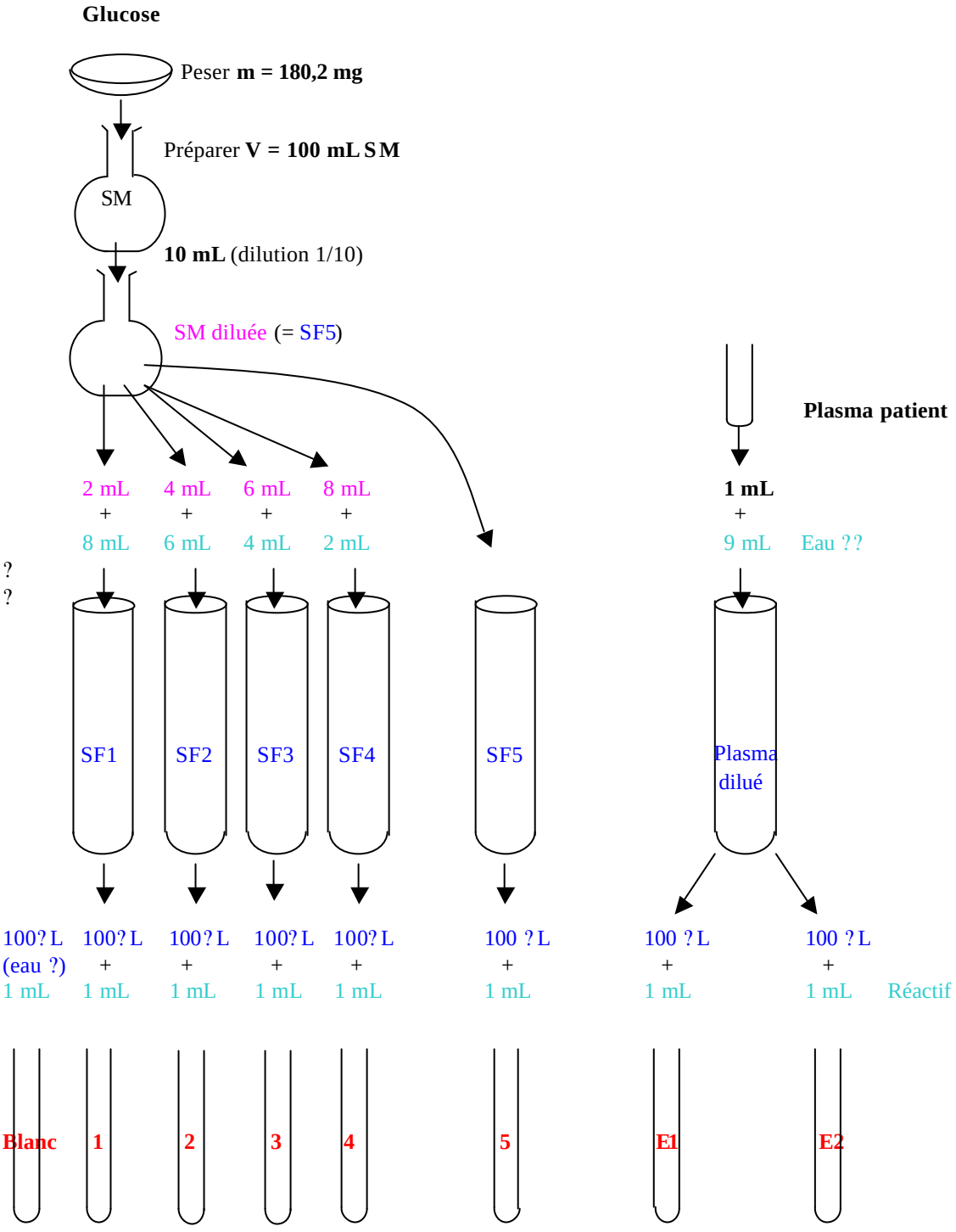
Ce TP peut être découpé en deux parties : les préparations des solutions étalons et de l'échantillon, suivies du dosage enzymatique.
La manipulation en elle-même ne présente pas de grandes difficultés, cependant elle nécessite une grande rigueur dans l'organisation étant donné les nombreuses dilutions à effectuer.

Après avoir présenté aux élèves le principe du dosage, je leur ai distribué le protocole et leur ai laissé un temps suffisant pour répondre aux questions posées (à savoir la masse de glucose à peser, la façon de réaliser les dilutions, savoir si l'échantillon a besoin d'être dilué et enfin la composition du réactif). Suite à cela, j'ai rapidement corrigé l'ensemble de ces questions.

J'ai ensuite donné quelques **consignes orales** à propos du matériel dont disposaient les élèves.

Enfin, avant qu'ils ne commencent à manipuler, j'ai **imposé aux élèves la réalisation d'un plan de manipulation sous forme de schéma**, en leur précisant que ce dernier ferait par la suite office de protocole, et qu'ils ne pourraient commencer à manipuler uniquement lorsque je l'aurai vérifié.
Pendant le temps où les élèves schématisaient leur protocole, je suis passée voir chacun d'entre eux afin de vérifier et rectifier si nécessaire les schémas incomplets ou erronés.

Schéma réalisé par un élève :



Attendre 20 min. à t° ambiante à l'obscurité. Lire A à 505 nm (contre blanc).

III.2.3.1- Résultats de l'expérimentation

? Comportement pendant la manipulation

Compte-tenu du grand nombre de dilutions à effectuer et compte-tenu de l'utilisation de deux types de tubes (tubes à essai et tubes à hémolyse), je m'attendais à ce que certains élèves commettent des erreurs (inversion des tubes, problème au niveau des dilutions…) ou me questionnent quant à l'utilisation des tubes.

A ma grande surprise aucun d'entre eux n'a commis d'erreur d'organisation ni posé de question.

? Comportement après la manipulation

Observations		**Nombre d'élèves**
Rédaction du compte-rendu	Rapide	**Tous**
Qualité du compte-rendu	Oubli du facteur de dilution pour le calcul de la glycémie.	**2** (A, G)

III.2.3.2- Analyse

- Tous les élèves sans exception se sont révélés être très autonomes au niveau des manipulations bien que ce TP présente une petite difficulté au niveau de l'organisation.

- Le compte-rendu a été rédigé rapidement et sans erreur (à part pou A et G) ce qui n'est pas étonnant étant donné qu'il ne présentait pas de difficultés majeures.

La réalisation d'un plan de manipulation par les élèves leur a permis d'analyser et de décortiquer le protocole en détail, chose qu'ils ne font qu'à moitié en temps normal.

De plus, le fait de ne pas imposer aux élèves le schéma réalisé par le professeur leur permet de vraiment s'approprier le protocole.
En effet, chaque élève a réalisé un plan de manipulation différent.
La majorité des élèves ont réalisé un plan de manipulation similaire au schéma présenté ci-dessus. Cependant, deux d'entre eux n'ont pas réalisé le plan sous forme de schéma mais ont réécrit clairement les consignes.

La schématisation de la manipulation par les élèves eux-mêmes semble donc être pour la majorité des élèves une excellente solution au problème d'autonomie.
Mais bien que le schéma facilite le traitement des données pour la majorité des élèves, j'ai pu constater qu'il ne convenait pas à tous les élèves.

IV- Comparaison des résultats obtenus en travaux pratiques de microbiologie et de biochimie

Dans cette partie, nous allons comparer les résultats obtenus en travaux pratiques de microbiologie aux résultats obtenus en travaux pratiques de biochimie, pour chacune des stratégies employées.

IV.1- Lecture du protocole

Pour cette « stratégie » nous avons observé pour certains élèves :

- **En microbiologie** : un non-respect des consignes.

- **En biochimie** : l'oubli d'étapes essentielles, des problèmes d'organisation ainsi que des incompréhensions.

Le fait de contraindre les élèves à lire attentivement le protocole n'apporte pas de réels changements.

Nous avons donc conclu que les élèves ont bien lu le protocole, mais cette lecture n'a pas été accompagnée d'une réflexion : les élèves ont lu sans essayer de comprendre.

Cette première stratégie est donc un échec en ce qui concerne l'appropriation du protocole par les élèves.

IV.2- Schématisation par l'enseignant

Pour cette « stratégie » nous avons pu constater une légère amélioration mais rien d'extraordinaire :

- **En microbiologie** : quelques erreurs persistent et quelques élèves posent des questions dont les réponses sont au tableau.

- **En biochimie** : des problèmes d'incompréhensions persistent (problème de mise en relation manipulations/questions), mais plus grande autonomie au niveau des manipulations pour la majorité de la classe, un seul élève pose vraiment problème.

Lorsque le schéma est effectué au tableau (soit par le professeur seul, soit avec la participation des élèves), la majorité des élèves se placent en situation de «récepteurs » du schéma (ils restent passifs) et de ce fait, ne s'approprie pas le protocole.

On peut cependant constater une amélioration sur l'ensemble de la classe, amélioration due à l'impact du schéma.
En effet, comme nous l'avons expliqué en amont, la schématisation permet l'organisation et la simplification des données. Les données étant mieux perçues par les élèves, ceux-ci se révèlent plus autonomes.

La schématisation d'une manipulation permettant un gain d'autonomie même si tous les élèves ne se sont pas approprié le protocole. La solution pour qu'ils acquièrent un maximum

d'autonomie réside donc dans la schématisation du protocole par eux-mêmes.

IV.3- Schématisation par les élèves

Malgré un temps de réalisation du schéma un peu long, nous observons un effet bénéfique de cette « stratégie » sur l'autonomie des élèves en séance de travaux pratiques.

- **En microbiologie** : certains schémas sont incomplets mais diminution du nombre de questions posées et diminution du nombre d'erreurs de manipulation.

- **En biochimie** : certains schémas sont incomplets, mais après correction de ces erreurs les élèves s'avèrent être très autonomes au niveau des manipulation.

Il est évident, comme nous l'avons fait remarquer plus haut, que dans les premiers temps les schémas des élèves ne sont pas parfaits. C'est à l'enseignant de corriger progressivement ces erreurs, et d'aider ainsi l'élève à travailler personnellement afin qu'il devienne l'acteur des apprentissages proposés en séance de travaux pratiques.

Cette dernière « stratégie » de schématisation des consignes par l'élève semble être la mieux adaptée pour l'appropriation du protocole par l'élève et ainsi l'acquisition de l'autonomie.

Conclusion

D'après l'analyse effectuée précédemment, nous pouvons conclure que le manque d'autonomie de nos élèves de terminale en travaux pratiques provient essentiellement de la mauvaise appropriation du protocole (tout aussi bien pour les travaux pratiques de microbiologie que pour ceux de biochimie).
Cette mauvaise appropriation du protocole est due à un problème au niveau de la lecture du protocole d'où une incompréhension de ce dernier.

Le problème de lecture n'est pas spécifique aux travaux pratiques, en effet, il se rencontre à tous les niveaux scolaires et dans toutes les disciplines. Mais en travaux pratiques, une incompréhension des consignes énoncées au niveau du protocole peut avoir une incidence grave sur la sécurité des élèves qui manipulent non seulement des réactifs dangereux mais également des souches bactériennes. Il est donc d'une importance capitale que les élèves aient bien assimilé ce qu'ils doivent faire, les risques qu'ils encourent et qu'ils soient autonomes pour les manipulations qu'ils auront à pratiquer dans le milieu professionnel.

Nous avons testé diverses expériences dans le but de savoir comment rendre nos élèves de terminale plus autonomes en séance de travaux pratiques et nous en sommes arrivé à une conclusion commune : la solution pour palier au problème d'autonomie se révèle être la même en ce qui concerne la microbiologie et la biochimie à savoir contraindre les élèves à schématiser le protocole avant toute manipulation.

En effet, d'une part l'outil graphique présente plusieurs intérêts :

- Un **pouvoir structurant** qui permet d'organiser les idées ;
- Une **dimension synoptique** qui favorise la vision globale et la distanciation ;
- Une **stimulation visuelle** qui, selon M. ADAM, ***« favorise l'intégration des informations »***.

D'autre part, le fait que les élèves aient à réaliser le schéma eux-mêmes :

- les incite à « **décortiquer** » toutes les consignes du protocole afin de pouvoir les retranscrire dans leur propre langage (chose qu'ils ne font pas lorsqu'on leur impose une lecture seule) ;
- les **motive**, en effet les élèves sentent ainsi que l'enseignant a confiance en eux et qu'il leur donne la possibilité de construire eux-mêmes leur savoir et savoir-faire.

L'acquisition de l'autonomie en travaux pratique passe donc, en grande partie, par l'appropriation des données par les élèves.
Cette appropriation peut se faire par la schématisation du protocole, mais il est certain que cette solution ne peut pas convenir à tous les élèves.
En effet, chaque élève fonctionne différemment, mais le temps dont nous disposons ne nous permet pas de pouvoir faire du cas par cas. Cependant il est évident que si cette méthode de schématisation ne convient pas du tout à un élève il faut alors le guider afin qu'il puisse trouver la méthode qui lui convient plutôt que le forcer à employer « notre » méthode à tout prix.

En conclusion nous pouvons dire que l'acquisition d'autonomie par les élèves en quelle que matière que ce soit passe par la confiance que l'enseignant accorde à ses élèves.

Annexe 1 :

TP N°3 de Microbiologie

PROTOCOLE : IDENTIFICATION D'UNE SOUCHE BACTERIENNE INCUBEE 24H A 37°C

JOUR 1

Vous disposez d'une souche bactérienne présentée sur gélose inclinée ou sur gélose nutritive.

1. Examens et tests :
   - Réalisez les examens microscopiques,
   - Effectuez un test d'enzymatique,
   - Proposez une orientation du diagnostic
2. Ensemencez les milieux suivants :
   - Galerie de famille ou genre
   - Galerie Api 20 NE
   - Milieux sélectifs : gélose au cétrimide, TCBS

Précisez la température d'incubation des milieux et de la galerie sur le compte rendu
Indiquez sur le compte rendu les propriétés des deux milieux sélectifs ensemencés.

JOUR 2 :

Identification de la souche bactérienne (*Présentez sous forme de tableau)*

- Observation macroscopique des colonies isolées
- Lecture des milieux ensemencés
- Interprétation des résultats
- conclusion

Annexe 2 :

Extrait du protocole du « Dénombrement en milieu liquide »

ANALYSE D'UNE CREME PATISSIERE.

On vous propose de contrôler la qualité sanitaire d'une crème. La méthodologie utilisée est le dénombrement en milieu liquide
Vous disposez de 4mL de suspension mère S_0, obtenue par dilution de la crème pâtissière au 1/100.

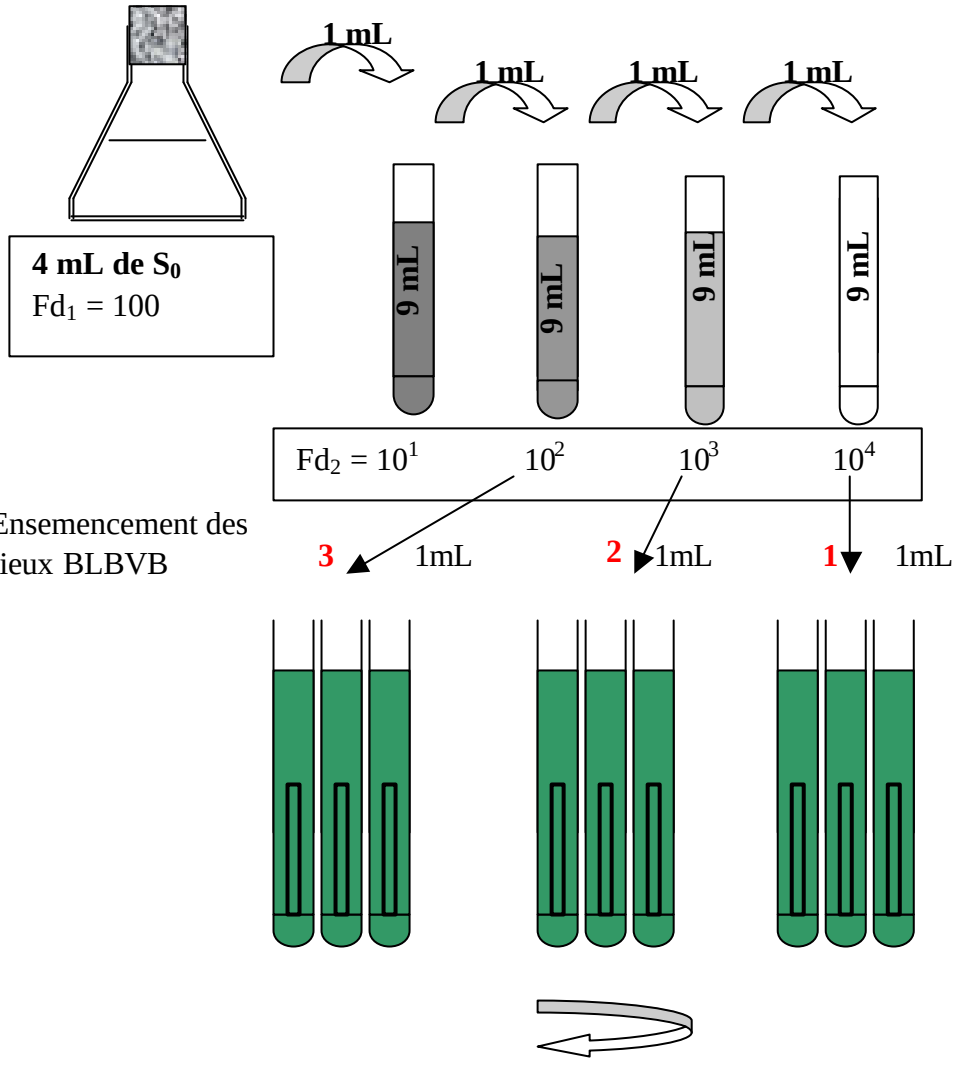
Jour I : DENOMBREMENT DES COLIFORMES TOTAUX DANS LA CREME

Dénombrer les coliformes totaux dans la crème par la méthode en milieu liquide utilisant le bouillon lactosé au BLBVB selon la méthode du NPP. Réalisez 3 essais par dilution.

Les dilutions testées sont :10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}

Schéma réalisé au tableau :

1. Réalisation des dilutions du produit étudié (eau, lait, jus de fruits…)



2. Ensemencement des milieux BLBVB

Matériel :
4 pipettes de 1mL
4 tubes de 9mL diluant

Matériel :
1 pipette 1mL pour toute la série (commencer par le tube le plus dilué.)

9 tubes de BLBVB + cloche

Agiter les BLBVB pour faire pénétrer de l'inoculum sous la cloche de Durham.

Annexe 3 :

Extrait du protocole du « Dénombrement en milieu liquide »

Jour II :

1. **DENOMBREMENT DES COLIFORMES TOTAUX DANS LA CREME**

Effectuez la lecture des milieux ensemencés
Evaluez le nombre de coliformes totaux par cm^3 de crème les résultats
Conclure quant à la qualité bactériologique de la crème.

Norme : Le critère microbiologique est le suivant : $N < 10^3$ coliformes par gramme de crème

2. Dénombrement des coliformes fécaux et *E.coli* par le test de Mackenzie

Dénombrez les coliformes fécaux et *E.coli* contenus dans l'échantillon de départ, selon le test de Mackenzie.

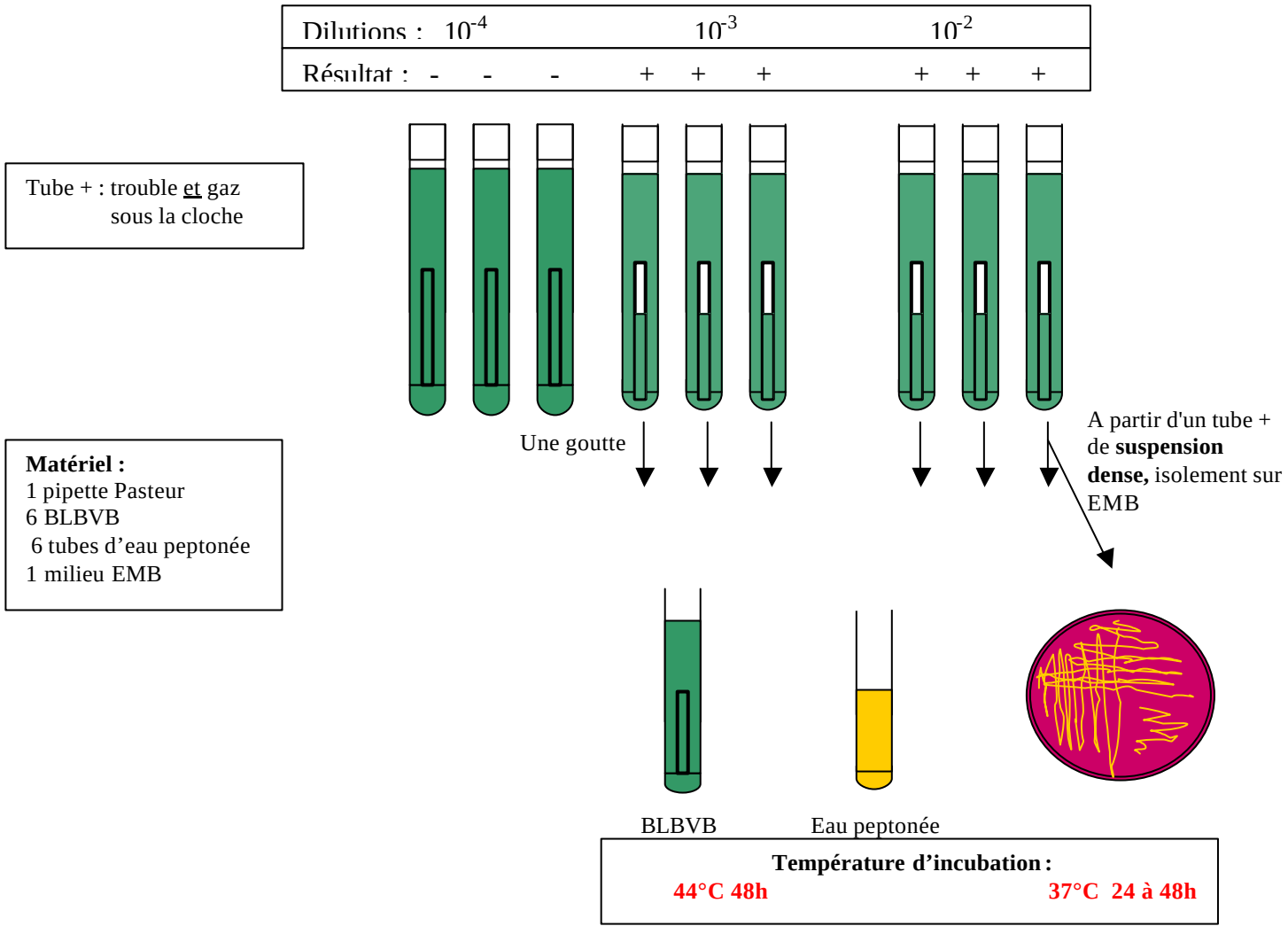
Pour cela vous disposez pour chaque résultat positif de:

- 1 tube de BLBVB
- 1 tube d'eau peptonée

3. Isolement des coliformes

A partir d'un tube contenant des coliformes, effectuez un isolement sur milieu EMB

Type de schéma attendu :


Dilutions : 10^{-4} 10^{-3} 10^{-2}
Résultat : - - - + + + + + +
Tube + : trouble et gaz sous la cloche
Une goutte
A partir d'un tube + de **suspension dense,** isolement sur EMB
Matériel :
1 pipette Pasteur
6 BLBVB
6 tubes d'eau peptonée
1 milieu EMB
BLBVB
Eau peptonée
Température d'incubation :
44°C 48h
37°C 24 à 48h

Annexe 4 :

Protocole distribué aux élèves : Révisions sur le dénombrement

JOUR I :

I. Dénombrement de la flore totale et des coliformes thermotolérants dans un échantillon de lait.

Vous disposez de 6 mL de lait dans lequel vous devez dénombrer la flore totale et les coliformes thermotolérants, par la technique de dénombrement en double couche.

1. Réalisez une série de 3 dilutions au 1/10 (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}).
2. Ensemencez 1mL de chaque dilution dans la masse:
   - D'une gélose pour dénombrement (2 boîtes par essai)
   - D'une gélose au désoxycholate (2 boîtes par essai)

Justifiez l'emploi de ces milieux, indiquez la température d'incubation.

II. Dénombrement de *S.aureus* dans une lotion oculaire

A partir d'un échantillon de lotion oculaire,
Réalisez une série de deux dilutions au 1/10 (10^{-1}, 10^{-2})
Ensemencez 0,1mL de chaque dilution à la surface d'un milieu Baird Parker.
(1 Boîte par essai)

Commande attendue :

- 5 tubes de 9mL diluant
- 6 pipettes de 1mL
- 1 pipette paille de 100µL
- 12 boîtes de pétri
- milieu PCA en surfusion
- gélose au désoxycholate en surfusion
- 4 milieux Baird Parker
- billes de verre

Annexe 5 :

Extrait du protocole du « hygiène des locaux»

JOUR I

I. DENOMBREMENT DES MICRO-ORGANISMES SUR UNE SURFACE INERTE :

On vous propose d'effectuer un contrôle microbiologique de la salle de travaux pratiques.
Vous devez effectuer un prélèvement selon la technique de l'écouvillonnage, sur la surface délimitée ($100cm^2$) de votre choix.

Mode opératoire :

- Plonger l'extrémité de l'écouvillon dans le tube d'eau stérile (de 2mL)
- Eliminer l'excès de milieu en pressant légèrement le coton sur les parois du tube
- Rouler doucement l'écouvillon sur la surface de votre choix à contrôler de haut en bas , de droite à gauche et en diagonale.
- Remettre l'écouvillon dans le tube d'eau stérile de 2mL
- Agiter l'écouvillon dans l'eau ou fermer le tube contenant l'écouvillon et vortexer au moins 15 secondes
- Ensemencer des inoculums de 0.1 mL à la surface des milieux fournis (2 essais par milieux).
- Incuber

Milieux fournis : PCA, géloses au cétrimide, géloses SABOURAUD, VRBL

II. ANALYSE MICROBIOLOGIQUE D'UN PATE :

Vous disposer d'un pâté sur lequel vous devez dénombrer la flore totale et les coliformes totaux.
La préparation de l'aliment consiste à mettre en suspension 10g de pâté dans 90mL d'eau stérile. Cette suspension est appelée suspension mère.

6 mL de cette dilution vous sera attribuée

- Réalisez une série de 2 dilutions 10^{-1}, 10^{-2}
- Ensemencer, par la technique d'ensemencement dans la masse, la suspension mère et les dilutions sur les milieux adaptés (2 boîtes par dilution).
- Incuber à la température adéquate.

Milieux fournis :
Gélose au désoxycholate à 0.1%
Gélose PCA

Commande attendue :

- 1 écouvillon
- 1 tube d'eau stérile de 2mL
- 1 pipette paille de 100µL
- 6 PCA,
- 2 géloses au cétrimide,
- 2 géloses SABOURAUD,
- 2 VRBL
- 2 tubes de 9mL de diluant
- 3 pipettes de 1mL
- 4 géloses au désoxycholate

Annexe 6 :

TP10 T^al STL

Dosage de la vitamine C

I- Etalonnage de la solution de 2,6-DCPIP (2 essais)

Dans une fiole d'Erlenmeyer, introduire :

- 5 mL de solution étalon de vitamine C à 0,5 $g.L^{-1}$;
- Environ 15 mL d'eau distillée bouillie et refroidie.

Verser à la burette la solution de 2,6-DCPIP assez rapidement au départ puis lentement à l'approche du point d'équivalence, jusqu'à apparition d'une couleur rose pâle persistant au moins 30 secondes.

Données :
La concentration de DCPIP utilisée couramment est voisine de 0,5 $g.L^{-1}$.
M_{DCPIP} = 326,11 $g.mol^{-1}$.
$M_{acide\ L\text{-}ascorbique}$ = 176,13 $g.mol^{-1}$.
? C/C = 0,8 %

Résultats :

I.1- Donner le schéma et l'équation du dosage. Etablir la formule littérale permettant de calculer la concentration molaire du DCPIP.

I.2- Remplir la feuille de résultats.

I.3- Concordance des résultats et conclusion.

II- Application au dosage dans un fruit (2 essais)

Peser le fruit : soit **m** (en g) la masse obtenue.
Presser le fruit et filtrer le jus : noter **Vt** (en mL) le volume total de jus par fruit.

Dans une fiole d'Erlenmeyer, introduire :

- 5 mL de jus filtré ;
- 5 mL de solution d'acide métaphosphorique à 20 $g.L^{-1}$;
- Environ 10 mL d'eau distillée bouillie et refroidie.

Doser par la solution de 2,6-DCPIP jusqu'au virage rose (persistant au moins 30 sec.).

Données : ? C/C = 0,8 %

Résultats :

II.1- Donner la formule littérale permettant de calculer la concentration molaire en vitamine C dans le fruit en $mmol L^{-1}$. Concordance des résultats et conclusion.

II.2- Remplir la feuille de résultats.

II.3- Calculer la teneur en vitamine C du fruit en mg par litre de jus, en mg pour 100 g de fruit.

Annexe 7 :

TP 19 T^{al} STL

Détermination de la vitesse initiale d'une réaction enzymatique en fonction de différentes concentrations en substrat afin de déterminer Km et Vm

Réactifs utilisés

- Solution d'enzyme étudiée : la phosphatase alcaline (PAL)

Pour conserver au mieux son activité enzymatique, l'enzyme doit être conservée dans la glace durant tout le TP

- Solution mère de PNPP à 16 mmol.L^{-1} **à conserver dans la glace**

- Solution de tampon Tris-HCl-Mg^{2+} : pH 8,6

- Solution de NaOH à 2,5 mol.L^{-1}

Organisation de la séance 2 cinétiques à 2 concentrations différentes par élève

- L'hydrolyse du PNPP sera suivie à la température de **30°C** en bain d'eau thermostaté (température à contrôler régulièrement).

- La réaction débute par l'ajout d'enzyme **préincubée 5 minutes à 30°C**

- La réaction est arrêtée à exactement **5** min, **10** min, **15** min, **20** min, **30** min, **45** min après ajout de la solution enzymatique par addition de 1 mL de NaOH concentrée dans le milieu réactionnel.

I- Dilutions de la solution mère de PNPP (2 par élève)

Dilution utilisée pour la cinétique	**I**	**II**	**III**	**IV**	**V**	**VI**	**VII**	**VIII**	**IX**	**X**
Solution mère de PNPP à 16 mmol.L^{-1}	12	6	4	3	2	2	2	1,5	1	1
Tampon Tris-HCl-Mg^{2+}	0	6	8	9	9	12	14	13,5	10,5	12
[PNPP].10^{-3} mol.L^{-1}										
Facteur de dilution										

II- Cinétiques enzymatiques (2 par élève : 1 à partir de chaque dilution préparée)

Tubes	T5	T10	T15	T20	T30	T45
Solution de PNPP diluée	**1 mL**					
Tampon Tris	**3 mL**					
Préincuber 5 minutes à 30°C (de même que l'enzyme)						
A t = 0 ajouter la PAL préincubée 5 min à 30°C	**1 mL**					
Arrêter la réaction exactement aux temps indiqués ci-dessous par addition rapide et homogénéisation immédiate de 1 mL de solution de NaOH à 2,5 $mol.L^{-1}$						
Temps (min) pour arrêter la réaction après ajout de la PAL	**5**	**10**	**15**	**20**	**30**	**45**
Eau distillée	**4 mL**					

Préparer également un **tube témoin** en introduisant dans l'ordre suivant :

- 1 mL de solution enzymatique ;
- 1 mL de solution de NaOH à 2,5 $mol.L^{-1}$;
- 1 mL de solution de PNPP à la concentration utilisée pour la cinétique ;
- 3 mL de tampon Tris-HCl-Mg^{2+} ;
- 4 mL d'eau distillée.

III- Mesure de la quantité de PNP formé par colorimétrie

- Mesurer l'absorbance à 405 nm des 6 tubes réalisés contre le tube témoin et reporter les absorbance dans le tableau de résultats.

- Puis reporter dans ce même tableau l'ensemble des résultats obtenus pour chacune des cinétiques enzymatiques réalisées par le groupe.

IV- Résultats

1- Sur une même feuille de papier millimétré, tracer pour chaque cinétique la représentation primaire A_{405nm} = f(temps) et commenter l'aspect des courbes obtenues.

2- Compléter le tableau de résultats :

? Calculer la concentration en PNPP en $mol.L^{-1}$ et l'inverse de la concentration en $mol^{-1}.L$

? Pour chaque cinétique, calculer la pente de la droite qui donne la vitesse d'apparition du PNP : - en ? $A.min^{-1}$ (cette valeur correspond à la vitesse initiale de la réaction Vi)

- en ? $mol.min^{-1}.L^{-1}$
- en ? $mol.min^{-1}$

3- A l'aide de ces résultats tracer les représentations de Michaelis et de Lineweaver et Burk.

? En déduire Km et Vm.

Annexe 8 :

TP 22 T^al STL

Détermination de la glycémie d'un patient : méthode à la glucose oxydase

I- Préparation des solutions étalon

- Préparer, par pesée de glucose anhydre, 100 mL une solution étalon mère (SM) de glucose à 10 mmol.L^{-1} ;

? **Quelle est la masse de glucose à peser pour préparer la solution mère ?**

- Diluer au 1/10^{e} la solution mère ;
- A partir de cette dilution, préparer 5 solutions étalon filles à 0,2 (SF1) ; 0,4 (SF2) ; 0,6 (SF3) ; 0,8 (SF4) et 1 (SF5) mmol.L^{-1}.

? **Comment réaliser ces 5 dilutions ?**

II- Dosage colorimétrique

Le dosage est effectué sur le sérum d'un patient.

Le réactif utilisé contient :

Réaliser la colorimétrie selon le tableau suivant dans des tubes à hémolyse :

Tubes	**Blanc réactif**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	***E1***	***E2***
SF1 (? L)		100						
SF2 (? L)			100					
SF3 (? L)				100				
SF4 (? L)					100			
SF5 (? L)						100		
Plasma du patient éventuellement dilué (? L)							100	100
Réactif (mL)	1							

? **Sachant qu'une glycémie normale est comprise entre 4,1 et 6,6 mmol.L^{-1} faut-il diluer le plasma du patient ?**

Bien agiter les tubes et laisser le temps nécessaire pour que la réaction soit totale :
- 10 minutes à 37°C
- ou 20 minutes à température ambiante

} **A L'OBSCURITE**

Mesurer l'absorbance contre le blanc réactif à 505 nm.

III- Résultats

Tracer la courbe d'étalonnage A = f(C).
Compléter la feuille de résultats.
Déterminer la glycémie du patient.

Données : M $_{glucose}$ = 180,16 g.mol^{-1}

BIBLIOGRAPHIE

CRDP AMIENS – 2ème édition, juin 1990 - Lecture d'énoncés et de consignes **–** Jean-Michel ZAKHARTCHOUK ; Florence CASTINCAUD.

CRDP AMIENS – janvier 1999 **–** Comprendre les énoncés et les consignes **–** Jean-Michel ZAKHARTCHOUK.

REVUE FRANCAISE DE PEDAGOGIE – n° 77 – octobre 1986 – Schématisation et acquisition de connaissance – Jean-François VEZIN.

LES SCHEMAS UN LANGAGE TRANSDISCIPLINAIRE -janvier 2000- - l'Harmattan -Michel ADAM

AUTONOMIE ET APPRENTISSAGE, l'innovation dans la formation – décembre 1999- Education et formation - Marie-José BARBOT et Giovanni CAMATARRI.

RAPPORT DE STAGE

DU RAISIN AU VIN

Les Analyses Œnologiques

SOMMAIRE

pages

INTRODUCTION 43

I. LE RAISIN 44
1.1. Composition du raisin 44
1.1.1. La rafle 44
1.1.2. La pellicule 44
1.1.3. La pulpe 44
1.1.4. Les pépins 44
1.2. Analyses de la matière première : le raisin 46

II. LA VINIFICATION 47
2.1. Vue générale sur la vinification 47
2.1.1. Foulage, éraflage 47
2.1.2. Mise en cuve 47
2.1.3. Décuve 48
2.1.4. La fermentation malolactique 48
2.1.5. Soutirage 48
2.1.6. Mise en bouteille 48
2.2. Les contrôles réalisés au cours de la vinification 49
2.2.1. Surveillance des fermentations 49
2.2.2. Contrôles de fin de fermentation alcoolique 51
2.2.3. Contrôle de fin de fermentation malolactique 51

CONCLUSION 52

Annexes :

Annexe 1 53
Annexe 2 53
Annexe 3 54
Annexe 4 55
Annexe 5 56
Annexe 6 57

DU RAISIN AU VIN
Les Analyses Œnologiques

INTRODUCTION

Ayant effectué la plupart des stages dans le secteur médical, en microbiologie et cytologie, j'ai souhaité compléter ma formation en changeant de domaine, c'est à dire connaître le secteur alimentaire qui m'est totalement inconnu, et surtout voir quelques analyses biochimiques applicables en travaux pratiques.

En 1ère année de formation, l'utilisation des micro-organismes dans la transformation d'aliments nous est présentée, notamment la production de vin par fermentation alcoolique des sucres par les levures.
Ayant appris avec rigueur, comme la plupart de mes collègues, les aspects de la fermentation, je souhaitais cette année me rendre compte des différentes **étapes nécessaires à l'élaboration du vin** et surtout **avoir une vue générale des analyses réalisées à chaque étape** .

L'œnologie, du grec *oinos*, vin et logia, théorie, est l'étude des techniques de fabrication, et de conservation du vin.

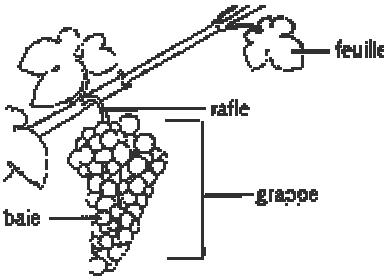
Entre les techniques de la vigne et celles du vin, la nature des problèmes et des difficultés rencontrées s'opposent.
Contrairement à la vigne qui se voit, se touche, s'observe, le vin n'a pas de forme ; les constituants qui déterminent son caractère ne sont pas figurés, et ne peuvent être saisis avec leurs changements que par des abstractions exigeant le langage de la chimie et l'appréciation gustative.

Nous verrons successivement les points suivants :

- La composition du raisin
- L'étude de la matière première
- La vinification
- Les contrôles de la vinification

I. LE RAISIN

I.1. Composition du raisin :



La grappe est formée de deux parties :

- La rafle
- Les grains ou baies qui comprennent :
  - ✍ la peau ou pellicule,
  - ✍ les pépins ou graines, la pulpe ou chair

I.1.1 La rafle

La rafle forme la charpente qui supporte les grains et lui apporte une bonne part de ses ressources. Elle se compose principalement :

- ✍ *de tanins* (environ 3%) :
  - Ils sont solubles dans l'alcool et dans l'eau.
  - Ils contribuent à donner du corps au vin. L'excès peut être un défaut (aussi appelé astringence).
  - Ils sont oxydables
  - Ils facilitent la clarification des vins nouveaux en contribuant à la floculation des protéines.
  - Ils sont très légèrement antiseptiques.
- ✍ *d'eau :*
- ✍ *de matières minérales* (2 à 3%): dont essentiellement des sels de potassium.

I.1.2. La pellicule

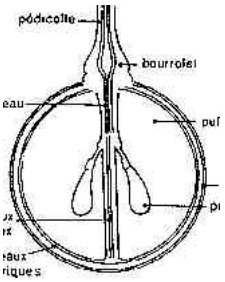
Elle est recouverte d'une matière cireuse appelée "la pruine" qui donne un aspect velouté au raisin.
La pellicule, ou enveloppe, assure l'imperméabilité et retient les levures apportées par le vent et les insectes.
On y trouve deux constituants essentiels :

- ✍ *Les matières colorantes*

Les anthociannes (pour les vins rouges) et les flavones (pour les vins blancs)

- ✍ *Les substances aromatiques*

Elles sont constantes pour chaque cépage, mais d'intensité variables suivant l'année, le sol et le degré de maturité du vin.



I.1.3. La pulpe

La pulpe constitue la partie la plus importante du grain de raisin..
Elle est composée :

- d'eau 70 à 80 %.
- de sucres (glucose et levulose) 100 à 300 gr/litre.
- d'acides organiques.
- de sels minéraux.
- de composants azotées.
- de vitamines (C, P, B)

I.1.4. Les pépins

Les pépins contiennent essentiellement des tannins et des huiles.
Dans 1000 grammes de moût on trouve en moyenne :

- de l'eau 700 à 780 gr.
- des sucres (glucose et levulose) 150 à 250g
- des acides organiques : acide tartrique, malique, citrique.
- de matière minérale 2 à 3 gr.
- de matière azotée et pectiques 0,5 à 1 g.

Vue générale des analyses réalisées au cours des différentes étapes de préparation du vin :

Raisin →

Analyses :
acidité totale, pH, anthocianes, degré probable

Egrappage : séparation des rafles des grains
Foulage : éclatement de la peau pour libérer le jus

Septembre

MISE EN CUVE

Ajout de :
- SO_2
- Levures

FERMENTATION ALCOOLIQUE

MOÛT

Paramètres contrôlés :
T°C
Densité
Sucres réducteurs

VIN SEC

Chapeau → **PRESSOIR**

Décembre

DECUVE

Vin de presse

FERMENTATION MALOLACTIQUE (FML)

Paramètres contrôlés :
T° = 20°C
Acidité totale
Degré
SO_2

SOUTIRAGE

Vin clair → Cuve pleine

Lie → **DISTILLERIE**

I.2. Analyses de la matière première : le raisin.

Avant les vendanges, le raisin est analysé, on parle de **contrôle de maturité**.
Le but étant de :

- déterminer la date des vendanges,
- connaître la composition du moût afin d'y adapter la technique d'élaboration du vin et éventuellement faire les corrections nécessaires.

Au cours de la maturation du raisin :

- Les matières colorantes qui augmentent
- Les arômes qui augmentent
- L' acidité diminue au cours de la maturation en raison de trois phénomènes :
  - **La dilution** due à l'augmentation de la taille du grain
  - **La neutralisation** des acides par les sels minéraux
  - **La respiration** des cellules qui puisent dans ces acides leur énergie.

A maturité les acides se répartissent inégalement dans la baie du raisin : l'acidité croît de la zone périphérique vers la zone centrale.

- Le taux de sucres augmentent. La zone intermédiaire est la plus sucrée, puis la zone périphérique ; et enfin la zone centrale

Selon le type de vin recherché, il faut trouver un équilibre entre les arômes et les acides tout en obtenant une grande richesse en sucres.

Le contrôle de maturité

La couleur, les arômes et le tanin de la pellicule sont analysés sur le terrain par observation et dégustation.
Le jus est extrait des grains récoltés afin d'effectuer les contrôles au laboratoire qui portent sur :

- Le dosage de **l'acidité totale,** qui se fait comme pour le vin (voir plus loin), permet de suivre l'évolution de la maturation du raisin.
- La mesure de la **densité** qui permet d'en déduire :
  - la **teneur en sucres** du moût à l'aide d'un tableau de correspondance
  - le **titre alcoolémique volumique probable**

    Le titre alcoolmétrique volumique d'un vin est le rapport entre le volume d'alcool à une température de 20°C contenu dans ce vin et le volume total de ce vin. Il est exprimé en volume d'alcool pour 100 volumes de vin.
    (volume d'alcool pur à 20°C susceptibles d'être produits par fermentation des sucres contenus dans 100 mL de volume du produit considéré à cette température.)

    Le titre alcoolémique probable est calculé à partir de la teneur en sucre : 16,83g de sucres par litre donnent 1% volume .
    (l'alcool pur a un titre alcoolémique volumique de 100 = 100 %vol)

- la mesure du **pH** qui doit se situer aux alentours de 3,3-3,5 à maturité.

II. LA VINIFICATION

2.1. Vue générale sur la vinification

La vinification désigne le passage du raisin au vin.

2.1.1. Foulage, éraflage

Tout d'abord, les récoltes de la vendange sont le plus souvent foulée. **Le foulage** consiste à faire éclater les baies sans pour cela écraser les pépins ni la rafle, ce qui permet de :

- libérer le maximum de jus et d'homogénéiser l'ensemble,
- mettre en contact les levures situées sur la pellicule et le moût très sucré,

Le foulage est fréquemment réalisé après **égrappage** (ou éraflage).
L'égrappage consiste à séparer les rafles des grains, ce qui permet d'obtenir :

- des vins plus colorés et un degré alcoolique légèrement plus élevé par l'absence de dilution,
- des vins plus souples, moins astringents, par suite de l'élimination de l'excès de tanin apporté par la rafle,

Ce procédé n'est pas systématique; la totalité de la vendange est parfois mise en cuve car les rafles apportent certains tannins qui rendent le moût moins oxydable et plus résistant face à certains microorganismes.

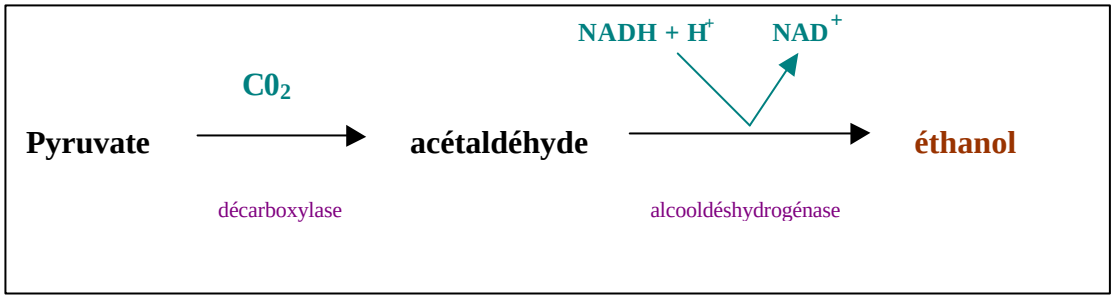
2.1.2. Mise en cuve

Au moment de la mise en cuve, sont ajoutés les levures ainsi que de l'anhydride sulfureux. Le sulfitage a d'une part des effets antioxydant et antimicrobien, d'autre part il favorise l'extraction et la stabilisation des composés phénoliques et aromatiques.

La vinification comprend deux groupes de phénomènes principaux :

? ? La fermentation alcoolique

La fermentation alcoolique est due à la transformation des sucres fermentescibles en éthanol par les levures *Saccharomyces cerevisiae*. Le glucose est d'abord transformé en pyruvate au cours de la glycolyse.
Le pyruvate est ensuite transformé en éthanol et gaz carbonique par fermentation alcoolique.



De nombreux produits secondaires sont formés (glycérol, acides volatils, alcools supérieurs, esters…) constituants essentiels du bouquet.
Le moût est sensible à l'oxygénation et aux attaques microbiennes, c'est pourquoi la durée de la phase pré-fermentaire doit être réduite en déclenchant la fermentation alcoolique le plus vite possible après la mise en cuve.

? ? **La macération**

La macération consiste principalement dans la dissolution dans le jus de constituants des parties solides de la vendange (pellicule, rafles, pépins, paroi des cellules de la pulpe). les constituants des parties solides qui se dissolvent dans le jus (ou moût) sont surtout les colorants, les tannins, les acides et les sels organiques, les vitamines, les enzymes, les composés azotés.

Les phénomènes de la macération ne se produisent que si il y a contact entre les parties solides et le jus. La différence entre vins blancs et vins rouges se situe au niveau de la macération puisque dans le cas des vins blancs, seul le jus obtenu par pressurage des récoltes, est soumis à la fermentation.

2.1.3. Décuve

Les parties solides entraînée par le CO_2 dégagé lors de la fermentation, flottent sur le jus pour former le **« chapeau »**. Lorsque la fermentation alcoolique est terminée, le liquide est retiré au moment de la **décuve**, et le chapeau qui tombe au fond de la cuve est pressé pour en extraire le vin qu'il peut contenir. On parle de **pressurage**. Les produits obtenus seront rajoutés au vin soutiré, ou vinifiés séparément pour faire un vin ordinaire, appelé « vin de presse ».

2.1.4. La fermentation malolactique

Les deux vins obtenus peuvent être soumis chacun à une **fermentation malolactique** afin de stabiliser biologiquement les vins.

La fermentation malolactique est réalisée par les bactéries lactiques (*Leuconostoc*, *Lactobacillus*) qui dégradent l'acide malique en produisant de l'acide lactique et du CO_2. Cette transformation aboutit à une désacidification, c'est à dire à une diminution de l'acidité totale, ayant des conséquences sur le goût : l'acide malolactique (di-acide) est très agressif et acide alors que l'acide lactique(mono-acide) l'est beaucoup moins.

Le vin devient « souple » avec un bouquet « évolué ».

Pour les vins rouges, la fermentation malolactique est favorisée en maintenant le vin a une température de 20°C permettant le développement des bactéries lactiques.

Lorsque la fermentation malolactique n'est pas recherchée, les vins secs contenant moins de 2g/L sont stabilisés par un apport suffisant de SO_2. Cette précaution évite le développement des bactéries lactiques qui pourraient attaquer les quelques sucres restant et provoquer l'augmentation d'acidité volatile.

2.1.5. Soutirage

Le vin est soutiré régulièrement afin de séparer le vin clair de retirer les lies (dépôts et levures mortes). Le soutirage consiste à transvaser le vin d'un fût à l'autre.

Dès la fermentation terminée, le vin est soutiré et additionné d'anhydride sulfureux

2.1.6. Mise en bouteille

Le vin peut alors être placé en fût de chêne pour les vins à vieillir ou mis en bouteille pour être commercialisés comme vins jeunes à boire.

2.2. Les contrôles réalisés au cours de la vinification

2.2.1. Surveillance des fermentations

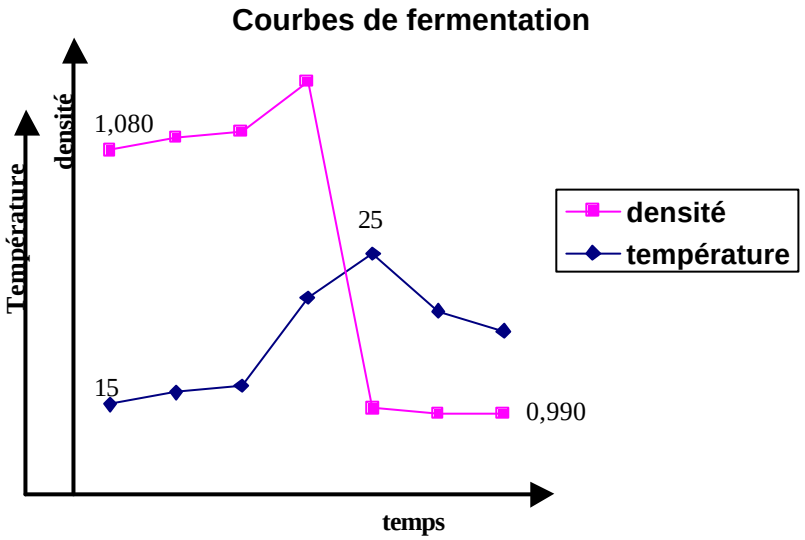
La surveillance du déroulement de la fermentation alcoolique se fait quotidiennement par deux mesures :

- La densité
- La température

? ? **La densité**

La densité (annexe 1) diminue continuellement au cours de la fermentation alcoolique (puisque l'alcool a une masse volumique inférieure à celle de l'eau) pour atteindre des valeurs de l'ordre 0.990

La stabilisation de la densité signe un arrêt de la fermentation. Le **dosage des sucres réducteurs** indique si la fermentation a été complète ou non.



? ? **La température :**

Si elle est trop basse, la phase pré-fermentaire est allongée or pendant cette période, le moût est fragile : il y a un risque d'oxydation du moût.

Si elle est trop haute, (supérieure à 35°C) les levures sont tuées.

Les températures optimales se situent entre 15 et 28°C selon le type de vin.

Elles doivent être au dessus de 13°C et en dessous de 30°C.

Concernant la fermentation malolactique, Une température constante de 18-20°C est optimale pour la croissance des bactéries lactiques. Un abaissement de la température lors du décuvage en introduisant le vin dans une cuve trop froide par exemple, risque de ralentir le déclenchement de la fermentation malolactique.

Les méthodes de refroidissement essentiellement utilisées sont le ruissellement d'eau sur la cuverie, ou l'utilisation d'appareils réfrigérants.

Le réchauffement se fait par chauffage de la cave ou utilisation d'appareils de circulation d'eau chaude.

La disposition des cuves et leur matériaux de fabrication influencent l'évolution de la température.

? ? Dosage de l'alcool : Titre alcoométrique du vin.

L'alcool représente de 7% à 16% du volume du vin. La législation est contraignante en ce qui concerne le titre alcoométrique.
L'alcool a trois effets principaux sur le vin : la stabilité, la couleur, le goût.

- La stabilité : l'alcool a un effet antiseptique sur les levures, d'autre part, il diminue la solubilité de l' acide tartrique qui précipitent sous forme de cristaux.
- Le goût : l'alcool réagit avec certains composés du vin, dont les acides, qui aboutit lors de la maturation à la formation d'esters qui participent au bouquet du vin. L'acétate d'éthyle cependant, résultant de l'action de l'alcool sur l'acide acétique, donne au vin le goût de « piqué »
- La couleur : L'alcool favorise la macération.

La méthode de dosage de l'alcool est présentée en annexe 6.

? ? Taux d'acidité totale :

L'acidité d'un moût ou d'un vin peut être exprimée :

- par le **pH** ou acidité réelle qui permet de mesurer la force de ces acides.
  Le pH du vin varie de 2,8 à 3,8.
- par **l'acidité totale**, représentant l'ensemble des acides du moût ou du vin (acides tartriques, malique, citrique, lactique, succinique, acétique….)

L'acidité totale joue un rôle important sur les caractères organoleptiques du vin en renforçant et soutenant les arômes. Elle apporte au vin du corps et de la fraîcheur tout en aidant à son vieillissement.
La connaissance de l'acidité totale permet d'envisager des corrections possibles.

L'acidité diminue sous l'effet de la fermentation malolactique. Le dosage de l'acidité totale permet de suivre l'évolution de la fermentation.

Le dosage de l'acidité totale est un dosage volumétrique : l'ensemble des acides du moût ou du vin est neutralisé par addition d'une solution de NaOH titrée.

? ? L'acidité volatile

L'acidité volatile (annexe 3) est constituée essentiellement par l'acide acétique et un de ses dérivés l'acétate d'éthyl, en faible partie par l'acide propionique, l'acide butyrique et leurs esters.
L'acide acétique est formé au cours

- de la fermentation alcoolique par les levures apiculées responsables des premiers degrés d'alcool dans les vendanges non sulfitées. Une température élevée peut également conduire à la formation d'acide acétique.

A la fin de la fermentation alcoolique on peut trouver de 0.15 à 0.30 g/L d'acidité volatile.

- de la fermentation malolactique, par les bactéries lactiques qui dégradent l'acide citrique et les sucres résiduels. Une augmentation de l'acidité volatile normalement est de l'ordre de 0,10 à 0,20 g/L.

les bactéries lactiques produisent d'autant plus d'acide acétique que la température et le pH du vin sont plus élevés (pH supérieur à 3,4 et température supérieure à 20°C)

A la fin de la fermentation malolactique, l'acidité volatile peut atteindre des taux de 0.40g/L.

Le dosage de l'acidité volatile permet de révéler des déviations et d'intervenir à temps.
Si le taux est supérieur à 0.40g/L, plusieurs causes peuvent être suspectées :

- déviation de la fermentation malolactique par les bactéries lactiques ; on parle de **piqûre lactique**.

La piqûre lactique peut apparaître

- ✍ pendant la fermentation alcoolique lorsque la température est supérieure à 30°C ; les levures arrêtent leur activité tandis que les bactéries se développent et transforment les sucres en acides lactiques et acide acétique.
- ✍ En cours et fin de fermentation malolactique, à partir des sucres résiduels.

Dans les deux cas le vin est altéré.

- Intervention des bactéries acétiques en présence d'air

La teneur en acide volatile doit être inférieure à 0.98 pour que le vin puisse être commercialisé.
Dosage indiqué en annexe 3

? ? **Le SO_2**

L'anhydride sulfureux est utilisé en vinification pour ses propriétés **antioxydantes** (par destruction des oxydases) et **antiseptiques (**Les bactéries sont extrêmement sensibles à de faibles concentrations en SO_2 libre elles sont également gênées par le SO_2 combiné). A forte dose, il est toxique pour le consommateur.
Le SO2 est dosé (annexe5) afin d'éviter la destruction des bactéries lactiques

Une partie du SO_2 ajouté dans le moût ou dans le vin se combine à certains constituants (Les 2/3 du $S0_2$ total, à un pH de 4.) Or seule la partie libre aura un effet protecteur. Le dosage du SO_2 libre et total permet de déterminer par différence la quantité de SO_2 combiné : « indicateur de l'état de santé du vin » (dans un vin altéré les combinaisons du $S0_2$ sont plus importantes). Le sulfitage se fait avant fermentation , en fin de fermentation et en cours de conservation.

2.2.2. Contrôles de fin de fermentation alcoolique

Le dosage des sucres réducteurs permet de s'assurer que la fermentation alcoolique est terminée (on considère que la fin de la fermentation est atteinte lorsque la teneur en sucre réducteur est inférieure à 2g/L).
Le vin obtenu est appelé « vin sec ».
La quantité de sucres réducteurs restant dans le vin après fermentation influence l'évolution et la qualité du produit fini.
Le glucose et le fructose sont dosé au laboratoire une méthode enzymatique et spectrophotométrie dont le principe est indiqué en annexe 2

2.2.3. Contrôle de fin de fermentation malolactique

La fermentation malolactique est terminée lorsque la totalité d'acide malolactique est transformé en acide lactique. La chromatographie sur papier présentée en annexe 4 permet de séparer les principaux acides organiques du vin. On peut ainsi se rendre compte du déclenchement de la fermentation malolactique et confirmer la disparition de l'acide malique.

CONCLUSION

La vinification est une technique complexe, fondée sur la connaissance de la matière première mais aussi du vin. En effet, le vin connaît plusieurs étapes avant d'être commercialisé.
Le laboratoire d'œnologie peut suivre chaque stade de son élaboration par un ensemble d'analyses. Ces analyses permettent d'entreprendre les corrections nécessaires pour éviter l'altération du vin.
Les contrôles ne s'arrêtent pas seulement à la récolte et à la vinification mais concernent également la conservation et la stabilisation des vins.

Annexe 1

Mesure de la densité

Remplir une éprouvette de 250mL de moût à étudier.
Laisser reposer pour que le moût se clarifie
Introduire le densitomètre en ne touchant pas les parois
Les mustimètres utilisés expriment en général la densité 15/4 : il ne sont exactes que lorsque la température est de 15°C

Annexe 2

Principe du dosage du glucose-fructose

L'hexokinase catalyse la phosphorylation du glucose et du fructose par l'ATP ; Les produits obtenus sont le glucose-6-phosphate (G6P) et le fructose-6-phosphate (F6P).

HK

Glucose + ATP - - - G6P + ADP
Fructose + ATP - - - F6P + ADP

Dans un premier temps, le G6P est oxydé en gluconate-6-P par le nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (NADP) en présence de l'enzyme glucose-6-phosphate-déshydrgénase (G6PDH)
La quantité de NADPH produit correspond à la quantité de G6P et donc à celle du glucose

G6PDH

G6P + $NADP^+$ - - - - - gluconate-6-P + NADPH + H^+

Le NADPH, présentant un maximum d'absorption à 340 nm, est dosé au spectrophotomètre.

Lorsque cette réaction est terminée, le F6P est transformé en G6P sous l'action de la phosphoglucose isomérase (PGI)

PGI

F6P - - - G6P

Le glucose 6 phosphate réagit à nouveau avec le NADP pour donner du gluconate-6-P et du NADPH qui sera dosé.

Les mesures d'absorbance se font :

- avant toute réaction enzymatique (A1)

Les réactifs en présence étant : le tampon
la solution de NADP
la solution d'ATP
le vin à doser

- après addition de l'hexokinase et glucose-6-phosphate déshydrogénase: (A2)
- après addition de PGI (A3)

Le dosage du glucose prend en compte la différence A2-A1
Le dosage du fructose prend en compte la différence A3-A2

Annexe 3

Dosage de l'acidité volatile par entraînement à la vapeur

Matériel utilisé :

- appareil composé : d'un générateur de vapeur d'eau ; la vapeur d'eau produite doit être exempte de CO_2,
  d'un barboteur ;
  d'une colonne rectificatrice,
  d'un réfrigérant
- trompe à vide à eau,
- fiole à vide.

Réactif : Acide tartrique 99%
Solution de NaOH N/10
Solution de phénolphtaléine à 1%
Solution HCl ½
Solution iode N/100
Empois d'amidon à 5g/L
Iodure de potassium en cristaux
Solution saturée de Borate de Sodium (55g/L) à 20°C
Solution 0.1 M d'acide acétique
Solution M d'acide lactique

Mode opératoire :
Préparation de l'échantillon : élimination du CO_2. Placer environs 50mL de vin dans une fiole à vide, agiter et en même temps faire le vide au moyen de la trompe à vide à eau.
Temps d'agitation : 1 à 2min.

Entraînement à la vapeur : placer 20ml de vin décarboniqué dans le barboteur. Ajouter 0.5g d'acide tartrique. Recueillir au moins 250mL de distillat.

Titrage :

- Titrer par la solution 0.1M d'hydroxyde de sodium en présence de 2 gouttes de solution de phénolphtaléine jusqu'à coloration rose-mauve. (n volume versé)
- Ajouter 2 gouttes d'acide chlorhydrique dilué au ½ pour repasser en milieu acide,
- Ajouter 1mL d'empois d'amidon et quelques cristaux d'iodure de potassium.
- Titrer le dioxyde de soufre libre par la solution 0.005M d'iode jusqu'à coloration bleue.(n' mL de volume versé)
- Ajouter la solution saturée de borate de sodium jusqu'à réapparition de la coloration rose.
- Titrer le $S0_2$ combiné par la solution 0.005M d'iode. (n"ml de volume versé)

L 'acidité volatile exprimée en g d'acide acétique par litre : [n- (n'/10 + n"/20)]x 0.300 g/L

Annexe 4

Contrôle de la fermentation malolactique par chromatographie sur papier

Matériel : papier Whatman
Bac à chromatographier
Micropipettes
Sèche cheveu
Béchers de 50mL

Solvant sous la hotte : 100ml de solution A
20ml d'acide acétique pur
20ml d'eau distillée

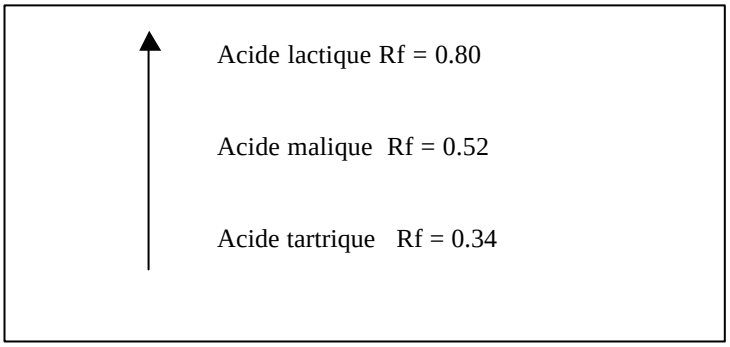
Solution A :Dans 1000 ml de n-butanol dissoudre à froid 1g de bleu de bromophénol

Préparation de la cuve : verser 100ml de solvant pour une cuve de 210x50x220mm
attendre 24h pour une saturation complète de la cuve

Préparation du support :

- Découper un rectange de papier
- Déposer à 2cm du bord et tous les 2cm 10µL environs de vin et sécher
- Mettre en place le papier de façon à ce que son extrémité inférieure trempe dans le solvant sur une hauteur de 0.5cm environ minimum .
- Laisser migrer le solvant jusqu'à ce qu'il arrive à 1cm du bord supérieur du papier
- Retirer le papier épingler à un fil pour le Séchage avec ventilation d'air froid
- Révélation : au bout de 4 à 5 heures des tâches jaunes apparaissent sur le papier qui passe du jaune au vert puis au bleu.

Interprétation :
Les tâches jaunes représentent les acides organiques. Ils peuvent être identifiés par des solutions témoins (acide malique, acide tartrique, acide lactique)



La fermentation malolactique est terminée si la tâche correspondant à l'acide malique a disparu. La tâche d'acide lactique est, dans ce cas, plus intense.

Annexe 5

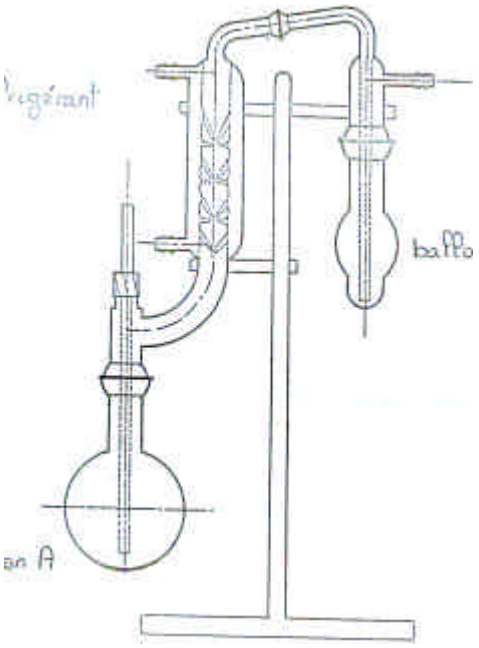
Dosage du SO_2 par méthode FRANTZ PAUL

L'anhydride sulfureux libre correspond à l'anhydride sulfureux à l'état de SO_2 et à l'état de combinaison minérale H_2SO_3, HSO_3- et SO_3--.
On appelle anhydride sulfureux combiné la différence entre anhydride sulfureux total et anhydride sulfureux libre.

Le SO_2 libre est entraîné par un courant d'air ou d'azote. Il est fixé et oxydé par barbotage dans une solution diluée et neutre de peroxyde d'hydrogène. L'acide sulfurique formé est dosé par une solution titrée de NaOH.
Le SO_2 total est extrait du vin par entraînement à la vapeur à chaud (100°C).

Appareillage : L'appareil Frantz Paul

Ballon	Barboteur
Réfrigérant	Bec de chauffe
Trompe à vide	Burette 10mL



Réactifs :

Acide orthophosphorique à 85%
Solution de péroxyde d'hydrogène à 9,1 g/l de H_2O_2
Réactif indicateur :
100mg de rouge de méthylène
50mg de bleu de méthylène
100ml d'alcool à 50% vol
Solution de NaOH N/10

SO_2 libre :

- Dans le ballon de 250ml introduire 20ml d'échantillon et 5ml d'acide orthophosphorique. Mettre le ballon en place.
- Dans le barboteur, introduire 2,5ml de solution de péroxyde d'hydrogène et 2-3 gouttes d'indicateur et neutraliser la solution de H_2O_2 par la solution de NaOH à 0.01N.
- Faire barboter pendant 15min. Le SO2 libre emporté est oxydé en acide sulfurique.
- Retirer le barboteur de l'appareil et doser l'acide formé par la solution de NaOH 0.01N

$S0_2$ total :

- Dans le ballon introduire 20ml d'échantillon et 7 ml d'acide orthophosphorique, mettre le ballon en place.
- Dans le barboteur introduire 2,5 ml de solution de péroxyde d'hydrogène, 2à3 gouttes d''indicateur et neutraliser la solution de H2O2 par la solution de NaOH 0.01N
- Porter le vin contenu dans le ballon à ébullition
- Faire barboter pendant 15min en maintenant l'ébullition. Le SO2 total entraîné est oxydé en acide sulfurique.
- Retirer le barboteur de l'appareil et doser l'acide formé par la solution de NaOH 0.01N.

Soit n le nombre de ml de NaOH versé, la teneur en SO_2 = 16 x n

Annexe 6 :

Dosage de l'éthanol du vin par oxydation chromique

1. Principe et équations de réactions

La manipulation se déroule en deux temps :

- premier temps : après neutralisation de l'échantillon de vin par une solution d'hydroxyde de sodium, l'éthanol est séparé du mélange par distillation simple sous pression atmosphérique. La distillation a pour but d'éliminer des constituants qui pourraient interférer dans le dosage.
- deuxième temps : on dose l'éthanol du distillat par oxydoréduction en retour. L'éthanol est oxydé en acide éthanoïque par un excès de dichromate de potassium en milieu acide. Le dichromate en excès est dosé par une solution étalonnée d'ammonium-fer II sulfate (sel de Mohr).

Le résultat est exprimé en pourcentage volumique d'éthanol (volume d'alcool pour 100 mL de vin).

Équations de réactions :

Oxydation de l'éthanol

$$CH_3CH_2OH + H_2O \rightleftharpoons CH_3COOH + 4H^+ + 4\,e^-$$

$$Cr_2O_7^{2-} + l4H^+ + 6\,e^- \rightleftharpoons 2Cr^{3+} + 7H_2O$$

Équation bilan : $3CH_3CH_2OH + 2Cr_2O_7^{2-} + l6H^+ \rightleftharpoons 3CH_3COOH + 4Cr^{3+} + 11H_2O$

Réduction de l'excès de dichromate

$$Cr_2O_7^{2-} + l4H^+ + 6\,e^- \rightleftharpoons 2Cr^{3+} + 7H_2O$$

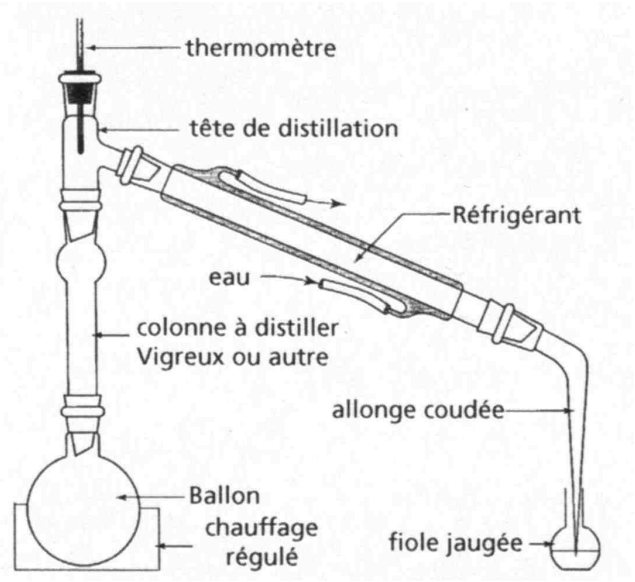
$$Fe^{2+} \rightleftharpoons Fe^{3+} + 1e^-$$

Équation bilan : $Cr_2O_7^{2-} + 6Fe^{2+} + l4H^+ \rightleftharpoons 2Cr^{3+} + 6Fe^{3+} + 7H_2O$

2. Protocole opératoire

Distillation de l'éthanol

Réaliser le montage de distillation en prenant soin de faire tremper l'allonge dans une fiole jaugée de 100 mL contenant environ 30 mL d'eau distillée, la fiole étant placée dans un bain d'eau froide (ou glacée).



Introduire dans le ballon :

- 10 mL de vin
- environ 50 mL d'eau distillée
- quelques mL de solution d'hydroxyde de sodium de concentration molaire voisine de 1 mol/L, jusqu'à neutralité (coloration verdâtre pour un vin rouge).
- quelques billes de verre.

Brancher le réfrigérant et distiller environ 30 mL de liquide.

Rincer ensuite l'allonge et ajuster la fiole jaugée au trait de jauge avec de l'eau distillée.

Précautions à prendre :

- vérifier l'étanchéité du montage car l'alcool est volatil
- élever la température progressivement
- éviter les surchauffes (rôle des billes de verre)
- surveiller le contenu du ballon ; arrêter la distillation avant qu'il ne soit à sec
- laisser refroidir le résidu de distillation avant d'ouvrir l'appareil.

Dosage de l'éthanol du distillat

Oxydation de l'éthanol

Dans une fiole d'Erlenmeyer rodée (ou pouvant être bouchée), introduire :

- V = 10 mL de solution de dichromate de potassium (le dichromate de potassium est cancérogène et polluant pour l'environnement : manipuler avec les précautions d'usage)
- 5 mL d'acide sulfurique concentré: verser lentement l'acide en agitant et en refroidissant. Quand le mélange est revenu à la température de la salle, ajouter :
- $V_{distillat}$ = 5 mL de distillat.
- Boucher l'erlen. Agiter doucement et attendre 15 à 20 min que l'oxydation soit complète.

Dosage de l'excès de dichromate de potassium

Ajouter dans l'erlen :

- 100 mL d'eau distillée
- 15 mL d'acide phosphorique pur
- 20 gouttes d'indicateur redox (diphénylaminosulfonate de baryum).

Doser par la solution d'ammonium-fer II sulfate étalonnée jusqu'à coloration vert émeraude franc. Soit V_{SM} le volume de solution d'ammonium-fer II sulfate versé.

Réalisation d'un témoin

Opérer comme pour l'essai en remplaçant le distillat par de l'eau distillée (inutile d'attendre 15 à 20 min). Soit V_T le volume de solution d'ammonium-fer II sulfate versé.

3. Expression des résultats

- Calculer la concentration molaire puis massique en éthanol du vin
- Calculer le pourcentage volumique en éthanol du vin sachant que la masse volumique (éthanol) = 0,7936 g/mL et que M(éthanol) = 46 g/mol.